Motilität und Lungenatmung des Hühnerfötus bei normalem und verändertem Schlupfgeschehen

Walter Kugler

Diss
München
1984

Aus dem Institut für

Physiologie, Physiologische Chemie und

Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät

der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von

Priv. Doz. Dr. Dr. habil. J. Wittmann

Motilität und Lungenatmung des Hühnerfötus bei normalem und verändertem Schlupfgeschehen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Walter Kugler

aus München

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät

der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. J. Wittmann

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. H. Waibl

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

In Liebe meiner Frau

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	3
1.1	Die Motilitätsentwicklung beim embryonalen Huhn (gallus domesticus)	5
1.2	Die Entwicklung der Lungenatmung beim fötalen Huhn (gallus domesticus)	8
1.3	Zielsetzung	12
2.	Eigene Untersuchungen	14
2.1	Material und Methoden	14
2.1.1	Reagentien	14
2.1.2	Applikation der Substanzen	15
2.1.3	Meßmethodik	15
2.1.3.1	Messung des Sauerstoffverbrauchs des Hühnerfötus	15
2.1.3.2	Messung der Sauerstoff- und Kohlendioxidkonzentration in der Luftkammer	17
2.1.3.3	Anordnung zur Erfassung der Motilität und der Lungenatmung	18
2.1.3.3.1	Motilität	18
2.1.3.3.2	Lungenatmung	19

2.1.3.4	Aufbereitung und Verarbeitung der Meßsignale	22
3.	Ergebnisse	28
3.1	Motilität und Lungenatmung bei Kontrolltieren	28
3.1.1	Motilität	28
3.1.2	Lungenatmung	30
3.2	Beeinflussung des Schlupfes durch L-Thyroxin	32
3.2.1	Motilität und Lungenatmung	33
3.3	Beeinflussung des Schlupfes durch Thioharnstoff	34
3.3.1	Motilität und Lungenatmung	34
3.3.2	Sauerstoffverbrauch, Gaszusammen- in der Luftkammer und Lungenschwimm- probe	37
4.	Diskussion	40
5.	Zusammenfassung	55
6.	Literaturverzeichnis	88

1. Einleitung

Das Vogelei ist, ontogenetisch gesehen, ein nahezu abgeschlossenes System, das nach außen durch die Schale begrenzt wird. Abgesehen vom Gasaustausch und von einigen physikalischen Faktoren wie z.B. Wärmezufuhr, Wenden und Luftdruck (27) verläuft die Embryogenese nach einem genetisch im Embryo fixierten Programm ohne jegliche Beeinflussung oder gar Steuerung von außen. Lediglich in den letzten Tagen vor dem Schlupf kann die Entwicklung auch unter physiologischen Bedingungen durch akustische oder taktile Reize etwas beschleunigt oder verzögert werden: Bewegungen und "Klicklaute" der am weitesten entwickelten Föten führen bei manchen Spezies zu einer schnelleren Entwicklung des restlichen Geleges (17,50,54). Umgekehrt bewirkt die fehlende "Antwort" von Föten im gleichen Entwicklungsstadium eine Entwicklungsverzögerung (50,51). Beim Gelege eines Nestflüchters kann der beschleunigte Schlupf, der durch die Stimulation erreicht wird, geradezu eine Frage des Überlebens sein. *Stoddard* (45) gibt hierfür z.B. bei der Virginischen Wachtel eine Zeitspanne von max. 1 Stunde an. Voraussetzung für diesen Synchronisationseffekt ist, daß die Eier mechanischen

Kontakt zueinander haben. Auch beim Haushuhn ist unter diesen Bedingungen die Streuung weniger breit als bei der Bebrütung im Inkubator, in dem die Eier getrennt liegen (51).

Der hohe Grad der Entwicklungsautonomie sowie der leichte Zugang zum Embryo zeichnen das Ei als Versuchsobjekt aus.

Vor allem ist es aber wegen der gänzlich anders ablaufenden perinatalen Phase ein äußerst interessantes Forschungsobjekt. Während vivipare Tiere "geboren werden", ist der Schlupf der oviparen Tiere eine Eigenleistung, die bereits pränatal einen koordinierten, willkürlich gesteuerten Bewegungsablauf voraussetzt (1,2,11,19,22,23,31,32,35,53,54). Ein markanter Unterschied zum Säugetier ist unter anderem, daß der Übergang zur Lungenatmung bereits innerhalb des Eies erfolgt und nicht wie beim Säugetier nach der Geburt. Deshalb waren Motilität und Lungenatmung des Vogelföten schon lange Gegenstand der Forschung, doch ist es bis heute nicht gelungen, alle damit zusammenhängenden Faktoren aufzuklären.

1.1 Die Motilitätsentwicklung beim embryonalen Huhn (gallus domesticus)

Die ersten eigenständigen Bewegungen sind bereits nach etwa 80 Stunden Inkubation zu erkennen (18). Periodisch setzen sie mit leichten Beugungen im kranialen Bereich ein, von wo aus im Verlauf des vierten und beginnenden fünften Entwicklungstages dann in kaudaler Richtung weitere Körpersegmente miteinbezogen werden. Etwa um die Mitte des fünften Entwicklungstages treten S-förmige Krümmungen auf, die wiederum kranial beginnen und sich wellenförmig bis in Höhe der Hinterextremitäten, später über den gesamten Embryo erstrecken. Im Verlauf des sechsten Entwicklungstages werden die Bewegungen komplexer: Die Krümmungen setzen dann auch in der Körperregion ein und breiten sich kopf- oder schwanzwärts oder auch in beiden Richtungen aus. Etwa um die Mitte des siebten Tages werden die Extremitäten mobil, wobei Flügel und Beine anscheinend unabhängig voneinander bewegt werden und weder eine Korrelation zwischen linker und rechter Seite noch zwischen Extremitäten und Körper erkennbar ist. Diese spontane, unkoordinierte Motilität, die im Verlauf der Entwicklung auch Augenlider, Schnabel und Zunge mitein-

bezieht, ist bis zum 13. Tag regelmäßig von Inaktivitätsphasen unterbrochen. Am 13. Tag geht die Periodizität verloren und die Motilität steigt auf ein Maximum an, sinkt aber dann im Verlauf der nächsten Tage wieder auf ein niedrigeres Niveau ab. Nach der Einteilung von *Hamburger et al. (19)* in drei unterschiedliche Motilitätsmuster entsprechen die ziehenden, offensichtlich unkoordinierten Bewegungen des ganzen Körpers oder einzelner Abschnitte mit niedriger Amplitude dem Typ 1. Parallel dazu treten Bewegungen des Typs 2 auf: Kurze, energische Sequenzen mit einer höheren Amplitude über einen Zeitraum von mehreren Sekunden. Vier Tage vor dem Schlupf, am 17. Inkubationstag, erscheint zusätzlich eine neue Form der Motilität, die als Typ 3 beschrieben ist: Sie umfaßt den gesamten Embryo. Es sind kraftvolle, aber langsam fließende Bewegungen. Erstmals ist eine Koordination zu erkennen, wenn beide Flügel gleichzeitig angehoben, vor- und rückwärts bewegt oder gezielte Rotationsbewegungen des Kopfes oder des ganzen Körpers durchgeführt werden. Zu diesem Zeitpunkt liegt der Fötus ringförmig im Ei, der Hals ist so weit nach unten gebogen, daß der Kopf in Kontakt mit dem Abdomen kommt; die Zehen sind nach vorne gestreckt und liegen

beiderseits dem Kopf an. Nach oben gerichtete Drehbewegungen heben ihn zunächst für kurze Zeit, im Verlaufe des 18. Tages immer länger, aus dem Dottersack. Die vor allem nach rechts gerichteten Bewegungen führen dann auch bis zum Ende des 18. Tages zur endgültigen Schlupfposition (19,22): Der Fötus liegt in Längsrichtung im Ei, wobei der Kopf zwischen Körper und rechtem Flügel so hindurchgestreckt wird, daß der Schnabel in Kontakt mit der Membran unter der Luftkammer kommt. Am 20. Tag, um den Zeitpunkt des Beginns der Lungenatmung, wird diese Membran durchstoßen und ca. 12 Stunden später die Schale selbst eröffnet (25,26,56). Am 21. Tag wird schließlich, ausgehend von der angepickten Stelle, das Loch zunächst vergrößert und dann entgegen dem Uhrzeigersinn ringförmig um die Längsachse des Eies erweitert (19). Dieser Vorgang ist von heftigen Rotationsbewegungen des Fötus begleitet. Wenn dann die Schale etwa zu Dreiviertel aufgepickt ist, wird der so entstandene Deckel abgesprengt und das Küken schlüpft aus dem Ei.

1.2 Die Entwicklung der Lungenatmung beim fötalen Huhn (gallus domesticus)

Als einer der letzten entscheidenden Schritte in der Embryogenese des Huhnes setzt am vorletzten Entwicklungstag die Lungenatmung ein. Beim Säugetier wird die Umstellung des Gaswechsels durch das Reißen der Nabelschnur, das eine rasche Veränderung des Sauerstoff- und Kohlendioxidgehalts im Blut des Neugeborenen zur Folge hat, erzwungen. Beim Vogel ist ein vergleichbarer Prozeß nicht gegeben. Vielmehr besteht der Chorioallantoiskreislauf noch über diesen Zeitpunkt hinaus und der Gasaustausch erfolgt bis kurz vor dem Schlupf sowohl über die vaskuläre als auch über die pulmonale Atmung (17). Durch die besondere Morphologie des Respirationstraktes erfolgt der Übergang zur Lungenatmung in zwei Schritten: Zu Beginn der Atmung über die Lunge ist deren respiratorische Oberfläche noch nahezu inaktiv. *Vince* (53) zeigte in ihren Versuchen, daß in einem sehr frühen Stadium, in dem die Schwimmprobe der Lunge noch negativ verläuft, das Luftsacksystem schon Luft enthält und erklärt damit die Möglichkeit zur Lautäußerung noch vor Einsatz der Atmungstätigkeit. Erst allmählich, im Verlauf von

mehreren Stunden, mit der Belüftung der Tertiärbronchen, erhält die Lunge ihre eigentliche Funktion.

Die einzelnen Stationen, die der Fötus diesbezüglich bis zum Schlupf durchläuft, sollen hier kurz skizziert werden:

Nach der öffnung der Glottis in der zweiten Entwicklungswoche dringt Amnionflüssigkeit in das Luftsacksystem ein, wodurch der Flüssigkeitsgehalt in den Luftsäcken bis zum 15. Tag ansteigt (38). Nach diesem Zeitpunkt verringert er sich wieder durch eine jetzt einsetzende Resorption (40), so daß am 19. Tag nur noch geringe Mengen vorhanden sind, die dann in den Pharynx gelangen und abgeschluckt oder über die Lunge resorbiert werden. Am 20. Tag ist dieser Vorgang, der eine der Vorbedingungen für die Lungenatmung ist, beendet (17,38).

Zu diesem Zeitpunkt liegt der Fötus, wie oben beschrieben, bereits in der Schlupfposition und berührt mit dem Schnabel die innere Schalenmembran, die ihn noch von der Luftkammer trennt. Die Membran ist über dem Schnabel "gefaltet" und der Fötus beginnt nun, ruckartig dagegen zu stoßen. Bei der Sektion findet man in diesem Stadium, noch vor irgendwelcher Atmungstätigkeit, Gasbläschen in Trachea und Luftsäcken sowie Schaum im Kropf. Die Schwimmprobe der Lunge verläuft dagegen negativ (53). Kurze Zeit vor oder nach der Eröffnung der Membran beginnen die ersten sporadischen Atemzüge. Das Atemvolumen ist dabei noch sehr klein. Innerhalb von 12 Stunden wird die Atmungstätigkeit rhythmisch und tief und erreicht eine Frequenz von etwa 100 Atemzügen pro Minute. Im Verlauf dieser von *Romijn* (42) als "parafötal" bezeichneten Phase erfolgt der Übergang von der "Chorioallantois-" auf die Lungenatmung. Der Chorioallantoiskreislauf, bis zu diesem Zeitpunkt die einzige Möglichkeit, Sauerstoff und Kohlendioxid über die Poren der Schale mit der umgebenden Luft auszutauschen (48,49), hat nach Hoiby (21) möglicherweise bereits zu Anfang der dritten Entwicklungswoche seine Kapazitätsgrenze erreicht, denn ab diesem Zeitpunkt stagniert der Sauerstoffverbrauch bis

zum Einsatz der Lungenatmung. In der Übergangszeit erfolgt der Gaswechsel über beide Systeme. Doch während die Lungenatmung immer effektiver wird, beginnen die Chorioallantoisgefäße nach dem Anpicken zu degenerieren (17,55). Ihre Funktion erlischt dann endgültig kurz vor dem Verlassen des Eies.

1.3 Zielsetzung

Die in den vorangegangenen Abschnitten beschriebene Entwicklung der Motilität während der Embryogenese des Huhnes wurde vor allem durch visuelle Beobachtung nach teilweiser oder vollständiger Entfernung der Schale erforscht. Die daraus resultierende Aktivität wurde verschiedentlich auch unter physiologischen Bedingungen am intakten Ei gemessen, doch gibt das dabei verwendete analoge Aufzeichnungsverfahren bei längerer Versuchsdauer nur einen schlechten Überblick über die Gesamtaktivität und läßt einen objektiven Vergleich einzelner Entwicklungsphasen nicht zu. *Heißenbeck* (62) umging dieses Problem durch manuelle Auszählung der Bewegungsfrequenz und fand dabei einen deutlich gegliederten Motilitätsverlauf während der letzten Inkubationstage.

In welchem Zusammenhang dieses Verhalten des Fötus mit der Lungenatmung steht, konnte bis jetzt nicht aufgezeigt werden, da hierfür geeignete Meßgeräte nicht zur Verfügung standen. Deshalb sollte im Rahmen dieser Arbeit zunächst ein Meßsystem entwickelt und aufgebaut werden, das die Messung von Aktivität und

Lungenatmung am intakten Ei ermöglicht. Mit dieser Anordnung sollte dann am Beispiel einer unbeeinflußten, einer beschleunigten und einer verzögerten Entwicklung geklärt werden, ob eine Korrelation der Aktivität mit der Lungenatmung besteht und ggf. inwieweit diese durch eine Verschiebung des Schlupfzeitpunktes beeinflußt wird.

2. Eigene Untersuchungen

2.1 Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden mit Eiern der Rassen *Weisses Leghorn* und *Braunes Leghorn* durchgeführt. Die Eier der Weissen Leghornrasse wurden vom *Versuchsgut Heinrichsruh (LSL)*, die der Braunen Leghornrasse vom *Geflügelhof Dachau* bezogen. Die Bebrütung erfolgte vor Meßbeginn zusammen mit anderen Eiern in einem Brutschrank. Ab Versuchsbeginn wurden die Eier in einen separaten Inkubator überführt, um äußere Störeinflüsse auszuschließen. Die Temperatur betrug jeweils 37,5 $\pm$0.5 °C, die relative Luftfeuchtigkeit 63-67%.

2.1.1 Reagentien

L-Thyroxin stellte freundlicherweise die *Fa. Henning, Berlin* kostenlos zur Verfügung. Thioharnstoff wurde von der *Fa. Merck AG, Darmstadt* bezogen.

2.1.2 Applikation der Substanzen

Die Applikation der Substanzen erfolgte am 17. Inkubationstag mittels einer 1ml-Injektionsspritze seitlich durch die Schale in den Dottersack. Die Lage des Fötus wurde durch vorheriges Schieren bestimmt. Das Loch wurde anschließend mit Klebstoff verschlossen. Frühere Versuche (61) haben die Eignung dieses Verfahrens nachgewiesen. Diese Untersuchungen haben ebenfalls gezeigt, daß die mit der Substanz applizierte Flüssigkeitsmenge keinen Einfluß auf die Entwicklung und den Schlupf hat. Deshalb wurde auf die Applikation physiologischer Kochsalzlösung bei Kontrolltieren verzichtet.

2.1.3 Meßmethodik

2.1.3.1 Messung des Sauerstoffverbrauchs des Fötus

Zur Messung des Sauerstoffverbrauchs wurde ein Meßsystem nach *Scholander et al.* (44) aufgebaut.
Das Meßsystem ist in Abb. 1 dargestellt. Eine
Meß- 1 und eine Ausgleichskammer 2 sind

vollständig in 37 °C warmes Wasser getaucht. Beide Kammern sind über ein zur Hälfte mit Flüssigkeit gefülltes U-Rohr 3 miteinander verbunden. Druckänderungen in einer der beiden Kammern bewirken nun einen Anstieg bzw. Abfall der Flüssigkeitssäule in den Schenkeln des U-Rohres. Zur Messung werden in die Meßkammer ca. 10 ml eines CO_2-absorbierenden Mediums 4 (z.B. Barytwasser) und das zu messende Ei 6 gegeben. Medium und Ei haben keinen Kontakt zueinander. Die Kammer wird mit einer mit O_2 gefüllten kalibrierten Spritze 5 verbunden. Nach einer Wartezeit von ca. 10 min zum Temperaturausgleich wird der Flüssigkeitsstand in den U-Rohrschenkeln mittels der Spritze auf gleiche Höhe gebracht. Sauerstoffverbrauch und Absorption des produzierten Kohlendioxids verringern das Gasvolumen in der Meßkammer. Durch den entstehenden Unterdruck steigt die Flüssigkeit in dem verbundenen U-Rohrschenkel. Zum Druckausgleich wird das Volumen periodisch mit Sauerstoff aus der Spritze aufgefüllt. Der Sauerstoffverbrauch läßt sich aus Volumendifferenz und Zeit berechnen.

2.1.3.2 Messung der Sauerstoff- und Kohlendioxidkonzentration in der Luftkammer

Die Gaskonzentrationen wurden nach einer von *Tazawa et al.* beschriebenen Methode (46) ermittelt: Am stumpfen Pol des Eies wird nach vorherigem Schieren zur Abgrenzung der Luftkammer ein Loch (d = ca. 2mm) gebohrt und eine luftgefüllte 2ml-Spritze dicht aufgeklebt. Nach einer Ausgleichszeit von ca. 2 Stunden wird die Spritze abgenommen und sofort mit einer abgedichteten Kanüle verschlossen. Sauerstoff- und Kohlendioxidkonzentration werden dann mittels eines Micro-Scholander-Apparates bestimmt, wobei in zwei Schritten die beiden Gase absorbiert werden und die jeweilige Volumendifferenz gemessen wird. Das Verhältnis der Differenzvolumina zum Ausgangsvolumen ergibt, multipliziert mit 100, dann die prozentuale Gaszusammensetzung.

2.1.3.3 Anordnung zur Erfassung der Motilität und der Lungenatmung

2.1.3.3.1 Motilität

Meßprinzip

Die Aktivität des Fötus wird indirekt über die Bewegung des gesamten Eies gemessen. Dabei führt die vollständige oder teilweise Verlagerung der fötalen Masse nach dem Impulserhaltungssatz zu zwei entgegengesetzt gerichteten Impulsen:

$m_F * v_F - m_R * v_R = 0$

m = Masse, v = Geschwindigkeit, F = fötaler Anteil

R = restliche Eimasse

Der Impulsanteil, der auf die Schale übertragen wird und zu einer Eibewegung führt, wird an einen mechanisch-elektrischen Wandler weitergeleitet und von diesem in ein elektrisches Signal transformiert.

Anordnung zur Erfassung der fötalen Motilität

Die für die indirekte Erfassung der Motilität

entwickelte Meßanordnung ist in Abb. 2 dargestellt. Das in der Halterung a liegende Ei wird durch die Feder b in seiner Lage stabilisiert. Halterung und Feder sind so bemessen, daß Eibewegungen in etwa zu einer Drehung um den Eischwerpunkt führen. Anschließend wird die Ruhelage wieder erreicht. Die Drehung führt zu einer Auslenkung des Fühlers c. Dieser ist mit einem mechanisch-elektrischen Wandler d verbunden, der eine zur Auslenkung proportionale elektrische Spannung abgibt. Eine geschirmte Meßleitung g führt dieses Signal an den Meßverstärker.

2.1.3.3.2 Lungenatmung

Meßprinzip

Wie in Abschnitt 1.2 ausgeführt, durchdringt der Fötus im Verlauf des zwanzigsten Tages mit dem Schnabel die innere Schalenmembran, die Luftkammer und restlichen Eiinhalt voneinander trennt. Mit dem Einsetzen der Lungenatmung treten dann meßbare intraovale Druckschwankungen durch Komprimierung und Dekomprimierung der ventilierten Hohlräume auf. Bei der Exspiration führt der Druck auf die Luftsäcke zum Ausströmen der

Luft über Lunge, Trachea und Schnabel in die Luftkammer. Der Strömungswiderstand - vor allem im Bereich der Lunge - bewirkt dabei einen Überdruck in den Luftsäcken. Da das Eivolumen auf Grund der harten Schale konstant bleibt, muß die Druckänderung an anderer Stelle kompensiert werden: Der Überdruck in den Luftsäcken hat einen Unterdruck in der Luftkammer zur Folge.

Bei der Inspiration liegen die Verhältnisse umgekehrt: Der Unterdruck in den Luftsäcken wird durch einen Überdruck in der Luftkammer kompensiert.

Erreicht der Fötus zum Zeitpunkt des Atmungsbeginns nicht die physiologische Schlupfposition, dann dringt er mit dem Schnabel nicht in eine präformierte Luftkammer ein, sondern durchstößt direkt die Eischale. Die Inspiration führt in diesem Fall zu einer Vergrößerung des Gasvolumens und damit zu einem Überdruck in der Luftkammer. Durch die Exspiration wird dieser Überdruck wieder abgebaut und es kann ein Unterdruck entstehen.

Da, wie oben ausgeführt, die Druckschwankungen in der Luftkammer nicht vom Erreichen der Schlupfposition ab-

hängen, kann mit der vorhandenen Meßapparatur die Lungenatmung in jedem Fall gemessen werden.

Manipulationen am Ei

Zur Messung der Lungenatmung wird am stumpfen Pol des Eies eine Fläche von ca. 0,25 cm^2 mit Alkohol entfettet und an dieser Stelle ein PVC-Schlauch (d = 2mm, Wandstärke = 0,25mm, l = 10mm) mit Cyanoacrylatkleber befestigt.

Nach einer Wartezeit von ca. 1 Stunde wird durch den Schlauch ein Loch (d = 1,4mm) in die Schale gebohrt. Durch die Wartezeit wird verhindert, daß während der Trocknung des Klebers entstehende Dämpfe ins Eiinnere gelangen. Anschließend wird der Schlauch mit dem Anschlußröhrchen des Atmungsmeßplatzes verbunden.

Anordnung zur Erfassung der Lungenatmung

Für die Messung der Lungenatmung wurde ein Meßplatz entwickelt, der über einen Schlauch zugeführte Druckänderungen in äquivalente elektrische Spannungen transformiert. Der Meßplatz ist in Abb. 3 dargestellt:

Eine flexible Membran A, die mit einer Platte B aus Polyacrylglas gasdicht verklebt ist, umschließt die Druckkammer C. Zur Zuführung des Meßdruckes ist die Platte mit einem Anschlußröhrchen D versehen, auf das ein PVC-Schlauch E (d = 2mm, Wandstärke = 0,25mm, l = 10cm) und ein Adapterröhrchen F aufgesteckt ist. Die Membran ist mit einem piezoelektrischen Wandler G (*Piezoelement R101, Gulton Industries,Inc.,212 Durham Avenue, Metuchen, New Yersey*) verbunden, von dem aus eine geschirmte Meßleitung H zum Verstärker führt.

Schwankungen des Luftdruckes in der Druckkammer durch die Lungenatmung des Fötus führen über die Membran zu einer Kraftwirkung auf das Wandlerelement. Dadurch wird eine elektrische Spannung generiert, die über die Meßleitung an den Meßverstärker weitergegeben wird.

2.1.3.4 Aufbereitung und Verarbeitung der Meßsignale

Der elektronische Teil des Versuchsaufbaus ist als Blockschaltbild in Abb. 4 dargestellt.

Verstärker und Impulsformer

Zur Aufbereitung der Motilitäts- und Atmungsmeßsignale wurde ein Verstärker mit Impulsformer entwickelt. Der Verstärker hebt das Meßsignal auf einen auswertbaren Spannungspegel an. Die Verstärkung ist dabei stufenlos einstellbar. Er besitzt einen Ausgang zur Aufzeichnung des analogen Meßsignals über einen Schreiber und eine Anschlußmöglichkeit für den Impulsformer.

Der Impulsformer wandelt das vom Verstärker kommende Analogsignal in (computergerechte) Digitalimpulse um, wobei bei Überschreiten einer Triggerschwelle pro 1 Bewegung bzw. 1 Atemzug dann 1 Impuls entsteht. Änderungen des Signals unterhalb dieser Schwelle führen zu keinen Impulsen.

Intensitätsmeßeinheit

Zur Auswertung der Atemtiefe bzw. der Bewegungsstärke wurde eine Intensitätsmeßeinheit entwickelt.

Die Größe und der zeitliche Verlauf des Verstärkersignals sind ein relatives elektrisches Abbild der gemessenen Aktion, d.h. der Länge und Tiefe eines Atemzuges

bzw. der Dauer und Stärke einer Bewegung. Die Intensitätsmeßeinheit bildet nun das Zeitintegral des Aktionsverlaufes und wandelt es in eine Folge von digitalen Impulsen um. Die Zahl der Impulse ist dabei proportional zur Fläche der Aktion über der Zeitachse der analogen Darstellung.

Datenschnittstelle

Zur simultanen Verarbeitung der Signale mehrerer Meßplätze durch einen Computer wurde eine Datenschnittstelle entwickelt. Sie besitzt 30 Eingänge für den Anschluß von Impulsformern und/oder Intensitätsmeßeinheiten. Die ankommenden Impulse werden für jeden Kanal getrennt aufsummiert und bis zum Abruf durch den Computer zwischengespeichert.

Computer

Die Versuchsteuerung erfolgt programmgesteuert durch einen Computer (*Commodore 4016, Commodore GmbH, 6000 Frankfurt/M*). Außer mit der Datenschnittstelle ist er verbunden mit einem Monitor zur visuellen Darstellung der Versuchsparameter, mit einem Diskettenspeicher und einem Drucker.

Diskettenspeicher

Die im Computer zwischengespeicherten Meßdaten werden programmgesteuert während des Versuchs an den Diskettenspeicher (*Commodore 8050, Commodore GmbH, 6000 Frankfurt/M*) übergeben und auf Diskette abgespeichert. Nach Versuchsende können sie zur Auswertung wieder in den Computer eingelesen werden.

Drucker

Parallel zur Diskettenspeicherung erfolgt die Datensicherung während des Versuchs über einen Drucker (*Printer 4022, Commodore GmbH, 6000 Frankfurt/M*).
Zur Auswertung des Versuchs werden nach Versuchsende die vom Computer berechneten Ergebnisse in Form eines Balkendiagramms dargestellt.

Software

Für Versuchssteuerung und Versuchsauswertung wurde jeweils ein BASIC-Programm entwickelt.

Versuchssteuerung:

Das Programm ist aus zwei Teilen aufgebaut: Vor Ver-

suchsbeginn werden über das Terminal die allgemeinen Versuchsdaten (Versuchscode, Datum, Uhrzeit, Meßintervallzeit, Meßkanäle) eingegeben. Der folgende Programmteil übernimmt dann die Steuerung während des Versuchs. Dabei werden periodisch die einzelnen Meßkanäle in der Datenschnittstelle abgefragt. Dieser Wert wird zum Wert der vorausgegangenen Abfragen addiert, das Ergebnis im Rechnerspeicher abgelegt und auf dem Monitor dargestellt. Nach Ablauf eines Meßintervalls übergibt der Computer die Endsummen mit der aktuellen Intervallnummer an Drucker und Diskettenspeicher. Nach Erhöhung der Intervallnummer und Löschen seines Meßdatenspeicherbereichs wiederholt sich der beschriebene Ablauf. Der Versuch kann jederzeit durch Eingabe eines speziellen Codes über das Terminal beendet werden.

Versuchsauswertung:

Nach Versuchsende können die auf Diskette gespeicherten Daten ausgewertet werden. Das Programm besteht aus zwei Teilen: Nach Eingabe des Versuchscodes gibt der Computer auf dem Monitor die Versuchsparameter aus. Die Auswahl von zwei Meßkanälen, des auszuwertenden Versuchszeitraumes, der Zahl der Meßintervalle, über die ein gleitender Mittelwert gebildet werden soll und der

der Zahl der zu addierenden Meßintervalle schließt den Eingabeteil ab.

Der gleitende Mittelwert über n Meßwerte wird dabei ermittelt, indem der jeweils "älteste" Wert durch einen neuen ersetzt, anschließend die Summe dieser n Meßwerte gebildet und diese durch n geteilt wird.

Der Computer berechnet nun in einem ersten Durchlauf die Werte für die beiden Säulendiagramme. Im zweiten Durchlauf ermittelt er die Abbildungsmaßstäbe, berechnet die Länge der Säulen und leitet die Werte zur graphischen Darstellung an den Drucker weiter. Parallel zu dieser Darstellung wird unter der Abszisse des unteren Diagramms ein Zeitraster im Abstand von 10 Säulen aufgetragen. Durch die Summierung mehrerer Meßintervalle können Versuche mit unterschiedlichen Meßintervallzeiten zeitlich angeglichen werden. Der gleitende Mittelwert glättet den Kurvenverlauf und dient der besseren optischen Darstellung.

3. Ergebnisse

3.1 Motilität und Lungenatmung bei Kontrolltieren

3.1.1 Motilität

Um einen Überblick über die Motilitätsentwicklung zu erhalten, wurden bei Kontrolltieren kontinuierliche Messungen ab dem 14. Tag durchgeführt. Ausschnitte aus den Analogaufzeichnungen sind in Abb. 5 dargestellt.

Wie Abb. 5 zeigt, befindet sich der Fötus fast ständig in Bewegung, wobei Perioden erhöhter Aktivität mit nachfolgender Ruhepause bei fortschreitender Entwicklung immer ausgeprägter werden. Die Ereignisse dauern dabei jeweils nur Sekunden. Ruhepausen, die die Minutengrenze überschreiten, treten nicht auf. Es besteht auch kein Tag/Nacht-Rhythmus. Mit dem Wachstum des Fötus vergrößert sich, bedingt durch die zunehmende Körpermasse, auch die Amplitude der Aktionen. Der Effekt ist vor allem bis zum 17./18. Tag sehr ausgeprägt.

Um den Motilitätsverlauf zu objektivieren, wurde die Bewegungsfrequenz gemessen. Dabei zeigt sich, daß auch bei einer Aufsummierung der Bewegungen über 30 min die Frequenz starken Schwankungen unterworfen ist (Abb. 6a). Die Meßintervallzeit betrug in diesem Fall 30 Minuten. Es besteht deshalb kein Zusammenhang mit den oben genannten kurzen, im Sekundenbereich liegenden Perioden. Abb. 6b zeigt das gleiche Aktogramm nach der Bildung eines gleitenden Mittelwertes über 8 Meßwerte. Die bei der Analogaufzeichnung beobachtete zunehmende Vergrößerung der Amplitude findet hier ihren Ausdruck in einem Frequenzanstieg von Meßbeginn bis etwa Mitte des 18. Tages. Aus dem Verlauf geht ebenfalls hervor, daß die Motilität keinem tageszeitlichen Rhythmus unterworfen ist. Ab dem 18. Tag wird ein mehr wellenförmiger Verlauf erkennbar (Abb. 6b). Die Änderungen erfolgen dabei jeweils im Verlauf mehrerer Stunden. Am 20. Tag verringert der Fötus seine Aktivität. Dieser Rückgang ist in den meisten Fällen sehr deutlich ausgeprägt. Föten, die die Schlupfposition nicht erreichen, vermindern die Bewegungsfrequenz in dieser Entwicklungsphase ebenfalls. Gegen Ende des 20. oder Anfang des 21. Tages steigt die Frequenz wieder an und erreicht dabei Werte, die

deutlich über denen des 19. Tages liegen. Dieses hohe Niveau bleibt bis zum Schlupf erhalten.

Um nun zu überprüfen, ob die Phase der verminderten Aktivität in Zusammenhang mit der Amplitude der Bewegungen steht, wurden Versuche mit unterschiedlich eingestellter Triggerschwelle durchgeführt. Weder eine Anhebung, noch eine Absenkung führte dabei zu einem anderen Frequenzverlauf (Abb. 19,20).

Um weiterhin sicherzustellen, daß sich während des gesamten Versuchs und besonders um die Zeit des Aktivitätsabfalls nicht der Charakter der Bewegungen ändert, z.B. von kurzen, schnellen Aktionen mit hoher Frequenz in langsame, langanhaltende mit niedriger Frequenz, wurde parallel zur Frequenz die Intensität der Bewegungen gemessen. Wie in Abb. 7 dargestellt, ergeben sich dabei bei einer Meßintervallzeit von 30 min nur geringfügige Abweichungen.

3.1.2 Lungenatmung

Die Lungenatmung setzt am 20. Tag während der Phase

der reduzierten Aktivität mit einzelnen sporadischen Atemzügen im Abstand von Sekunden bis Minuten ein. Sie sind deutlich gegliedert in In- und Exspiration (Abb. 8). In den folgenden 30 bis 60 Minuten werden sie abgelöst von kurzen Sequenzen von 6 - 15 aufeinander folgenden Atemzügen mit geringem Volumen bei einer Frequenz von etwa 4 - 6 Hertz. Diese Sequenzen erscheinen dabei in der Regel im Abstand von mehreren Sekunden synchron zur Motilität (Abb. 9). Das Atemvolumen nimmt dann geringfügig zu und es wird ein Rhythmus erkennbar (Abb. 10). Es erscheinen nun, zunächst vereinzelt in unregelmäßigen Abständen, tiefe In- und Exspirationen (Abb. 11,12), die jedoch im Verlauf der nächsten Stunden immer häufiger auftreten, dabei an Größe zunehmen und wie in der Anfangsphase zu Sequenzen zusammengefaßt werden (Abb. 13,14). Die tiefe, regelmäßige Lungenatmung (Abb. 15,16) setzt dann innerhalb kurzer Zeit während einer der Sequenzen ein. Sie kann sich auch durch fortwährende Verkürzung der Zeitabstände zwischen den Sequenzen ausbilden.

Die Lungenatmung beginnt, wie oben beschrieben, in der Phase der reduzierten Aktivität. In keinem Fall wurde

eine aktive Atmungstätigkeit vor dem Absinken der Motilität registriert. Kurz nach Beginn ist häufig ein nochmaliger Rückgang zu beobachten (Abb. 17,19). Dann aber führt der Frequenzanstieg und die Zunahme des Atemvolumens zu einer tiefen, regelmäßigen Respiration. Die oben beschriebenen Übergangsformen sind den Abb. 17 bis 20 zu entnehmen. Das Ende der registrierten Atemtätigkeit noch vor dem Schlupf ist gleichzusetzen mit dem Anpicken, das wie in "Material und Methodik" beschrieben, zu einem Wegfall der Druckschwankungen führt.

3.2 Beeinflussung des Schlupfes durch L-Thyroxin

Nach dem unter Punkt 2.1.2 beschriebenen Verfahren werden am 17. Inkubationstag 18,79 nmol L-Thyroxin ins Ei appliziert und Motilität und Lungenatmung im weiteren Verlauf der Inkubation verfolgt. L-Thyroxin führt zu einer Vorverlegung des Schlupfes um ca. 24 Stunden gegenüber Kontrolltieren.

3.2.1 Motilität und Lungenatmung

Abgesehen vom zeitlichen Entwicklungsverlauf äußert sich die Wirkung des Hormons nicht in einer Veränderung des Motilitätsprofils oder des Übergangs zur Lungenatmung. Die Motilität ist wie bei den Kontrolltieren kontinuierlich, wobei das Aktivitätsmuster dem in Abb. 5 gezeigten entspricht.

Dabei weist die Hüllkurve (Abb. 21) alle für die Kontrolltiere beschriebenen Charakteristika auf: Nach unregelmäßigen Schwankungen um einen Mittelwert im Abstand von mehreren Stunden fällt einen Tag vor dem Schlupf die Aktivität auf ein niedrigeres Niveau ab. Nach Einsatz und Stabilisierung der Lungenatmung in den folgenden 12 - 15 Stunden nimmt sie dann wieder zu und es bildet sich ein deutliches Maximum bis zum Schlupf am 20. Tag aus.

Die Schlupfposition wird bis zum Anpickzeitpunkt von etwa 30% der Föten nicht eingenommen. Dies hat jedoch weder einen Einfluß auf den Motilitätsverlauf noch auf den eigentlichen Schlupf. Alle oben beschriebenen Merkmale gelten unverändert.

Die beschleunigte Entwicklung unter dem Einfluß von L-Thyroxin führt zu einem Einsetzen der Lungenatmung bereits am 19. Tag (Abb. 21).

3.3 Beeinflussung des Schlupfes durch Thioharnstoff

Thioharnstoff wird am 17. Inkubationstag nach dem in Abschnitt 2.1.2 beschriebenen Verfahren appliziert. Eine Dosis von 13,15 umol verzögert den Schlupf um 24 - 48 Stunden gegenüber Kontrolltieren. Die Gabe von 19,35 umol unterbindet hingegen in der Regel das Anpicken und Schlupf vollständig.

3.3.1 Motilität und Lungenatmung

Im Gegensatz zu Thyroxin, das lediglich eine zeitliche Verschiebung der einzelnen Entwicklungsphasen bewirkt, nimmt Thioharnstoff direkten Einfluß auf die Motilität und auf die Lungenatmung des Fötus.

Bei einer Thioharnstoffdosis von 13,15 umol wird zwar der Schlupf noch durchgeführt, doch ist der Motilitätsverlauf gegenüber dem von Kontrolltieren verändert. Während bei den Kontrolltieren mit zunehmender Respiration auch die Aktivität wieder ansteigt und bis zum Schlupf auf einem hohen Niveau bleibt, äußert sich die Thioharnstoffwirkung in einer Depression dieses Anstiegs (Abb. 23) oder unterbindet ihn bis kurz vor dem Schlupf vollständig (Abb. 22). Ein ausgeprägtes Maximum wird erst in den letzten Stunden erreicht.

Die Atmungstätigkeit setzt in der Regel am 21. Tag ein, in Ausnahmefällen beginnt sie jedoch bereits in der zweiten Hälfte des 20. Tages. Die beiden Diagramme (Abb. 22,23) zeigen, daß bis zur vollen Ausbildung der Lungenatmung ein breites Spektrum von Übergangsformen besteht, das von einem raschen Anstieg mit nachfolgender intensiver Ventilation (Abb. 22) bis hin zu einer geringen Atmungstätigkeit bis kurz vor dem Anpicken (Abb. 23) reicht. Der Atmungs/-Motilitäts-Vergleich ergibt in dieser Phase keine Korrelation. Während einmal bei geringer Atmungstätigkeit die Aktivität zunimmt (Abb. 23), bleibt sie

im anderen Fall trotz intensiver Ventilation auf dem Niveau der Vortage (Abb. 22). Das oben angesprochene Aktivitätsmaximum bildet sich in jedem Fall erst nach dem Anpicken aus.

Bei einer Thioharnstoffgabe von 19,35 umol wird dieses Stadium nicht mehr erreicht und der Schlupf damit unterbunden. Die Aktivität bleibt, abgesehen von kurzfristigen Anstiegen, auf dem am 20. Tag erreichten Niveau (Abb. 24,26,27,28).

Die Lungenatmung kann noch bis zum 22. Tag einsetzen. Ein späterer Beginn wurde nicht beobachtet. Wiederum zeigt sich ein quantitativ breites Wirkungsspektrum, das von einem Atmungsbeginn in der zweiten Hälfte des 20. Tages bis hin zum völligen Ausbleiben einer Respirationstätigkeit reicht. Bei sehr frühem Einsatz kann der Verlauf dem von Kontrolltieren entsprechen (Abb. 26). Der steile Abfall der Atmungsfrequenz auf Abb. 26 ist auf das Anpicken der Schale zurückzuführen. Daß der Respirationstrakt über diesen Zeitpunkt hinaus ventiliert wird, zeigen die Abbildungen 24 und 25. Die Schlupfposition wurde in diesem Fall nicht erreicht und die Schale

außerhalb des Luftkammerbereiches eröffnet. Aus dem Intensitätsverlauf (Abb. 25) ist zu entnehmen, daß auch das Atemvolumen beibehalten wird und sogar noch zunehmen kann. Eine Steigerung in dieser späten Phase führt jedoch zu keiner Änderung der Situation mehr.

Bei nahezu vollständiger und bei vollständiger Unterdrückung der Lungenatmung (Abb. 27,28) wird die Schale nicht mehr angepickt. Die Aktivität weist in diesen Fällen eine mit fortschreitender Inkubationsdauer fallende Tendenz auf. Markante Aktivitätsänderungen, wie etwa die auf Abb. 26 dargestellten, sind dann nicht mehr zu beobachten.

3.3.2 Sauerstoffverbrauch, Gaszusammensetzung in der Luftkammer und Lungenschwimmprobe

Wie eingangs erwähnt, nimmt der Sauerstoffverbrauch unter physiologischen Bedingungen nach mehrtägiger Stagnation mit dem Übergang zur Lungenatmung wieder zu. In den Abschnitten 3.1 und 3.2 wurde gezeigt, daß parallel hierzu auch die Aktivität des Fötus auf ein

Mehrfaches des Ausgangswertes ansteigt und bis zum Schlupf nicht mehr wesentlich absinkt. Diese Atmungs/-Motilitäts-Korrelation wird durch Thioharnstoff aufgehoben. Das verzögerte Aktivitätsmaximum trotz teilweiser aktiver Atmungstätigkeit bei niedriger Dosierung, vor allem aber der gleichbleibende bis fallende Verlauf bei fehlender Atmungstätigkeit nach einer auf 19,35 umol erhöhten Gabe, legten die Vermutung nahe, daß diese Veränderungen in einem Energiemangel als Folge einer Hypoxie begründet sind.

Deshalb wurde bei Föten aus der Versuchsreihe mit der hohen Thioharnstoffdosis die Lungenschwimmprobe durchgeführt. Dieser Test führt in der Regel, unabhängig von einer eventuell vorhandenen Atmungstätigkeit (Abb. 24-28), zu einem negativen Ergebnis. Vereinzelt schwimmen jedoch kleine Lungenbezirke, die sich schon durch eine hellrote Farbe auszeichnen, nach der Abtrennung vom restlichen Gewebe.

Um nun sicherzustellen, daß in Fällen mit meßbarer Atmungstätigkeit der Respirationstrakt lediglich ventiliert wird, dabei aber kein oder nur ein minimaler Gasaustausch stattfindet, wurde der Sauerstoffverbrauch

und die Gaszusammensetzung in der Luftkammer gemessen. Die Ergebnisse sind in den **Tabellen 1,2** (S. 87) zusammengefaßt. Der Vergleich mit Kontrolltieren zeigt, daß bis zum Atmungsbeginn der Kontrolltiere keine signifikanten Abweichungen auftreten. Sowohl der Sauerstoffverbrauch als auch die Sauerstoff- und die Kohlendioxidkonzentration in der Luftkammer stimmen mit den Werten der unbehandelten Föten annähernd überein. Während sich aber der Sauerstoffverbrauch der Kontrolltiere am 21. Tag etwa verdoppelt, nimmt er bei thioharnstoffbehandelten Föten nur noch geringfügig zu. Ebenso zeigen die gleichbleibenden Gaskonzentrationen in der Luftkammer bei diesen Föten, daß die Lungenoberfläche auch bei starker Ventilation nahezu oder völlig inaktiv bleibt.

4. Diskussion

Die scheinbar einfache Problematik der Bewegungsmessung erweist sich bei näherer Betrachtung als äußerst komplex. Dies gilt insbesondere dann, wenn, wie bei Messungen an Tieren, den Aktionen keine strenge Gesetzmäßigkeit zugrunde liegt. Während der Fall eines Steines, die Drehung eines Rades oder das Rollen einer Kugel allein durch physikalische Faktoren wie Schwerkraft, Massenverhältnisse, Reibung etc. bestimmt wird, verlaufen Tierbewegungen in den meisten Fällen weder kontinuierlich, noch periodisch, noch sind sie vorherbestimmbar. Schon die Abgrenzung mehrerer aufeinanderfolgender Bewegungen führt zu Schwierigkeiten, wenn die Übergänge fließend sind. Ob beispielsweise das kurz unterbrochene Heben einer Gliedmaße als eine oder zwei Bewegungen zu werten ist, bleibt der subjektiven Ansicht des Experimentators überlassen. Neben diesem Definitionsproblem führt auch die Vielfältigkeit und die Vielzahl gleichzeitig ausgeführter Aktionen zu meßtechnischen Schwierigkeiten. Durch die gleichzeitige Beschleunigung und/oder Verzögerung mehrerer Körperteile in allen möglichen Raumebenen mit unterschiedlicher Kraft ist die aus diesem komplexen Ablauf

resultierende Gesamtbewegung in ihrem quantitativen Ausmaß nur schwer zu erfassen. Aus diesen Gründen ist das Problem der Bewegungsmessung am Tier bis heute technisch und apparativ nur unvollkommen gelöst. Es stellt sich auch die Frage, welchem Zweck die Messung dienen soll. Um lediglich die Reaktion auf einen bestimmten Reiz zu testen, reicht häufig schon die Zählung der Einzelbewegungen aus, unabhängig von Größe, zeitlichem Verlauf und Verlagerung der Körpermasse. Soll dagegen eine Aussage über den damit verbundenen Energieaufwand gemacht werden, so ist die Frequenzmessung nur unter gewissen Voraussetzungen tauglich.

Es ist deshalb verständlich, daß es zur Messung der Motilität keine Standardmethode geben kann, sondern daß für jeden Einzelfall eine optimale Lösung gesucht werden muß. So wurde im Laufe der Zeit eine Vielzahl von Motilitätsmeßgeräten entwickelt oder für den jeweiligen Anwendungsfall modifiziert, z.B. das Laufrad und die Laufgalerie für die lokomotorische Aktivität von Ratten und Mäusen (12,13), Zitter- und Kippkäfig für die Lokalmotilität (34) von Tieren unterschiedlichster Größe und verschiedensten Gewichtes (5,30), etwa von Maus bis Rind. Für sehr kleine

Individuen sind diese mechanisch arbeitenden Geräte nicht geeignet. *Nielson* (29) bediente sich deshalb der intermittierenden Fotografie zur Messung der Aktivität von Moskitos. Von großem Vorteil sind die in neuerer Zeit beschriebenen kontaktlosen Meßverfahren, von denen als Beispiel noch das optisch arbeitetende System nach *Petry (36)* genannt werden soll, eine Nachempfindung des Auges, das den größten Meßbereich aller bekannten Verfahren überstreicht. Seine Möglichkeiten reichen von der Motilitätsmessung an Kleinstlebewesen via Mikroskop bis zur Erfassung der Aktivität von Tieren in freier Wildbahn.

Für die Messung der intraovalen Aktivität oviparer Tiere eignet sich jedoch keines der genannten Verfahren, da sie alle den direkten optischen oder mechanischen Kontakt des Versuchstieres zur Meßapparatur voraussetzen. Eine Störung des intraovalen Entwicklungsvorganges kann jedoch nur mit Sicherheit ausgeschlossen werden, wenn die Schale nicht in größerem Ausmaß verletzt wird. Dies gilt insbesondere bei längerer Versuchsdauer und zusätzlicher Messung der Lungenatmung. Die visuelle Beobachtung (1,18,19)

erschien deshalb ebenso ungeeignet wie die Messung des Muskeltonus (6). Andere Methoden, etwa die Schaffung einer künstlichen Luftkammer (9), die Lagerung des Eies auf drei Meßfühlern (24,54) oder auf einer Spule in einem Magnetfeld (43), wobei der Aufbau dem eines Lautsprechers entspricht, erwiesen sich in Vorversuchen entweder als meßtechnisch äußerst aufwendig oder als zu störanfällig. Das von *Petry und Wittmann* beschriebene Induktionsverfahren (35), bei dem das Ei auf zwei Schienen über einer Drahtspule liegt und ein an der Schale befestigter kleiner Magnet bei Bewegungen des Fötus eine elektrische Spannung induziert, schied auf Grund zu geringer Empfindlichkeit aus. Bei gleichzeitiger Atmungsmessung trat durch die notwendige Schlauchverbindung eine zu hohe Dämpfung auf. Der in Abschnitt 2.1.3.3.1 beschriebene Aufbau basiert jedoch auf dem gleichen Prinzip, wobei die Schienen durch Federdrähte ersetzt sind und ein Piezoelement die Funktion des Magnet-Spule-Systems übernimmt. Allen diesen Verfahren gemeinsam sind jedoch die eingangs beschriebenen Mängel: Bewegungen können, wenn sie nicht kontinuierlich verlaufen, mehrfach gezählt werden oder die Resultante kann zu Null werden, wenn die Aktionen in verschiedenen Richtungen verlaufen und gleichzeitig

ausgeführt werden. Diese prinzipiellen Mängel lassen keine absoluten Aussagen über die Motilität des Föten zu, vielmehr können lediglich relative Veränderungen gemessen werden.

Ähnlichen Einschränkungen unterliegt die Messung der Lungenatmung. Die exakte Bestimmung des Respirationsvolumens ist mit keinem der von anderen Experimentatoren angewandten Verfahren, die alle auf der Registrierung von Druckänderungen basieren, möglich (8,9,28,52,53,54,63,64). Diese Schwankungen verlaufen zwar proportional zur Atmungstiefe, ihre absolute Größe hängt aber noch ab von der Morphologie des Respirationstraktes, dem Luftkammervolumen und der Konstruktion der Meßapparatur (7). Die Gerätekonstante zu eliminieren, wäre noch möglich. Aber bereits die unterschiedliche Ausbildung der Luftkammer würde zu einem Fehler von über 25% führen (42). Die Veränderungen in den Lumina der Atemwege durch Schaum, Sekret oder aspirierte Flüssigkeit lassen sich dagegen nicht einmal abschätzen. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb auf absolute Druckangaben verzichtet.

Da die Lösung dieser prinzipiellen Probleme mit den

zur Verfügung stehenden Mitteln äußerst fraglich schien und da sie vor allem den Rahmen dieser Arbeit weit überschritten hätte, wurde ein anderer Weg beschritten und die Aussagen der Frequenzmessung bezüglich der Aktivität des Föten durch ein zweites Meßverfahren überprüft. Während bei der Frequenzmessung lediglich die Amplitude der Aktion das Kriterium für eine Ja/Nein-Entscheidung ist, wertet die Intensitätsmessung neben der Amplitude noch den zeitlichen Verlauf der Bewegung. Zum Beispiel führt die Verlagerung des ganzen Körpers, die bei der Frequenzmessung unter Umständen nur 1 Zählimpuls erzeugt, bei der Intensitätsmessung zu einer Vielzahl von Impulsen. Herzaktionen dagegen, die in den letzten Inkubationstagen eine meßbare Größe erreichen (Abb. 8,10,11,16), beinhalten eine höhere Frequenz, der Intensitätswert ist jedoch auf Grund der kleinen Amplitude und der kurzen Dauer niedrig. Der Frequenz/Intensitäts-Vergleich (Abb. 7) zeigt aber, daß bei der gewählten Meßintervallzeit von 30 Minuten und geeignet eingestellter Triggerschwelle größere Abweichungen nicht mehr auftreten. Beide Verfahren geben den fötalen Motilitätsverlauf recht gut wieder.

In der vorliegenden Arbeit hat sich gezeigt, daß der Motilitätsverlauf in den letzten Inkubationstagen gegliedert ist in eine Phase konstanter Aktivität, die vor dem Einsetzen der Lungenatmung endet, in eine Phase reduzierter Aktivität um die Zeit des Atmungsbeginns und eine Phase stark erhöhter Aktivität, die dann bis zum Schlupf andauert. Dieses festgefügte Schema wird bei einer Vorverlegung des Schlupfzeitpunktes durch L-Thyroxin nicht verändert und es ist prinzipiell auch bei einer Schlupfverzögerung durch Thioharnstoff anzutreffen. Das Motilitätsprofil stimmt im Grundsatz auch mit anderen Messungen überein (19,23). Ein von *Hamburger et. al* (19) und *Kovach* (23) beschriebener Rückgang der Aktivität am 18. und 19. Tag wurde bei den eigenen Untersuchungen jedoch nicht gemessen. Es hat sich auch gezeigt, daß die Aktivität nicht, wie von *Vince et al.* (50) vermutet, zu den auslösenden Faktoren für die Lungenatmung zählt, da eine Hypoxie als Folge einer Motilitätssteigerung vor Atmungsbeginn auf Grund der vorliegenden Messungen auszuschließen ist. Die Lungenatmung setzt in der Phase der verminderten Aktivität ein. Das hervorstechendste Merkmal des Motilitätsprofils ist jedoch die starke

Aktivitätszunahme am letzten Inkubationstag. Offensichtlich ist diese gesteigerte Motilität Voraussetzung für einen erfolgreichen Schlupf. Dieses Aktivitätsmaximum der gesamten intraovalen Entwicklung wird durch L-Thyroxin lediglich um etwa 24 Stunden vorverlegt. Auch bei einer Schlupfverzögerung durch Thioharnstoff wird es ausgebildet, doch weist das Motilitätsprofil in diesem Fall schon starke Veränderungen auf. Während bei unbeeinflußter Entwicklung (Abb.17-20) und beschleunigter Entwicklung (Abb. 21) der Anstieg in jedem Fall vor dem Anpicken der Schale und kontinuierlich erfolgt, ergibt sich bei der Schlupfverzögerung durch Thioharnstoff ein intermittierender Verlauf (Abb. 23) oder eine Unterdrückung des Zuwachses bis nach dem Anpicken (Abb. 22). Wird der Schlupf dagegen unterbunden, dann fehlt dieses Maximum vollständig (Abb. 24,26-28).

Der Motilitätsverlauf steht in engem Zusammenhang mit der Lungenatmung. In die Phase reduzierter Aktivität fällt der Atmungsbeginn. Die nachfolgende Aktivitätssteigerung erfolgt erst, nachdem die Atmungstätigkeit stabilisiert ist und der zusätzliche Energiebedarf durch den Gasaustausch über die Lunge gedeckt werden

kann. Der Gaswechsel über die Chorioallantoisgefäße reicht hierzu nicht mehr aus. Als limitierender Faktor ist hierbei der Aufbau der Eischale in Betracht zu ziehen. Der Diffusionswiderstand der Schalenmembranen ist nach *Wangensteen et. al* (59) von untergeordneter Bedeutung. Im Verlauf der Schalenbildung entstehen, über die Oberfläche verteilt, durch unvollständige Anordnung der Calcitkristalle feine Poren (48,49), über die sich dann von Beginn der Embryogenese bis zum Zeitpunkt des Anpickens der gesamte Gaswechsel vollzieht. Dieser Diffusionsprozeß erfolgt nach dem Fick'schen Gesetz (33). Danach ist die Menge des pro Zeiteinheit ausgetauschten Gases proportional zur Druckdifferenz der diffundierenden Gase und zur Porenfläche und umgekehrt proportional zur Porenlänge (33,60). Die Kapazitätsgrenze scheint ab dem 16. Tag erreicht zu sein (21), denn ab diesem Zeitpunkt stagniert der Sauerstoffverbrauch bis zum Beginn der Lungenatmung (39). Mit einsetzender Respiration steigt er zunächst langsam, dann, wenn diese Barrieren durch das Anpicken entfallen, sprunghaft an (55,57). Auch die Gaszusammensetzung in der Luftkammer spiegelt dieses Geschehen wider: Der zu Inkubationsbeginn überraschend hohe Sauerstoffgehalt von mehr als 21%

fällt bis zum 10. Tag um maximal 0.75% ab. Die Kohlendioxidkonzentration beginnt etwa ab dem 4. Tag zu steigen und beträgt am 10. Tag ungefähr 1%. Danach verändert sich die Gaszusammensetzung rapide. Am 16. Tag liegt der Sauerstoffgehalt bei ca. 14% und sinkt bis zum 20. Tag weiter bis auf etwa 12% ab. Die Kohlendioxidkonzentration erreicht am 16. Tag die 4%-Marke und steigt bis zum 20. Tag bis auf ca. 6% an. Diese Veränderungen nehmen nach allgemeiner Ansicht Einfluß auf das Schlupfgeschehen und sind ein Stimulus für den Beginn der Lungenatmung (8,10,15,16,41,42,56, 63,64). So beobachteten z.B. *Windle et al.* (63) nach einer Begrenzung des Gaswechsels durch teilweise Zerstörung der Chrioallantois ein spontanes Einsetzen von Atembewegungen bereits am 14. Tag. *Visschedijk* (58) konnte zeigen, daß die Gaszusammensetzung in der Luftkammer vor allem für den Zeitpunkt des Anpickens, nicht aber für die Dauer der parafötalen Phase von Bedeutung ist. Eine Angleichung an die Umgebungsluft durch Anbohren der Schale über der Luftkammer verzögerte das Anpicken um ca. 6 Stunden. Das Abdichten des Luftkammerbereichs mit Paraffin hatte den gegenteiligen Effekt: Die Schale wurde, verglichen mit Kontrolltieren, ca. 6 Stunden früher aufgebrochen (43).

Alle diese Befunde deuten auf eine Hypoxie zum Zeitpunkt des Atmungsbeginns hin, wofür auch der ab dem 16. Tag stagnierende Energieverbrauch (37) und der steigende Kohlendioxid- bzw. der fallende Sauerstoffdruck im Blut sprechen (16,47).

In dieses Bild fügt sich auch das konstante Aktivitätsniveau am 18. und 19. Inkubationstag sowie der Motilitätsrückgang vor Atmungsbeginn. Der Übergang zur Lungenatmung behebt den Sauerstoff- bzw. Energiemangel dann wieder und ermöglicht einen Aktivitätsanstieg und damit den Schlupf.

L-Thyroxin stimuliert das pränatale Wachstum (3,4,25). Die künstliche Erhöhung des Hormonspiegels hat neben einer früheren Reifung der Lunge auch einen erhöhten Sauerstoffbedarf zur Folge (32), durch den eine bereits bestehende Hypoxie noch verschärft wird. Es kann deshalb angenommen werden, daß diese Entwicklung einer der Hauptgründe für den Atmungsbeginn am 19. Tag ist.

Als Antagonist des L-Thyroxins verzögert Thioharnstoff die Lungenreifung und den Atmungsbeginn. Überraschen-

derweise liegt aber der Sauerstoffverbrauch bis zum 20. Tag nicht unter dem von Kontrolltieren. Dagegen deutet schon bei der Schlupfverzögerung der Motilitäts- und der Atmungsverlauf auf die verspätete Lungenreifung hin (Abb. 22,23). Im Gegensatz zu Kontrolltieren und thyroxinbehandelten Föten folgt dem Atmungsanstieg nicht immer eine Aktivitätssteigerung. Dies zeigt, daß der Gasaustausch über die Lunge gestört ist. Während sich bei niedriger Dosierung (13,15 umol) die Situation im Verlauf des 22. bis 24. Tages noch wendet, führt die erhöhte Dosis (19,35 umol) zur Katastrophe. Auch bei starker Ventilation (Abb. 24-26) kann die Krise nicht mehr überwunden werden. Das für den Schlupf notwendige Aktivitätsniveau wird nicht mehr erreicht. Wie der dramatische Verlauf in Abb. 26 andeutet, können kleinere Lungenbezirke zwar noch aktiviert werden. Die über diesen Weg gewonnene Energie reicht jedoch für einen Schlupf nicht mehr aus. Bei fehlender oder nahezu fehlender Lungenatmung (Abb. 27,28) wird der Gaswechel durch die Chorioallantoiskapazität limitiert. Die Motilität überschreitet deshalb auch nicht mehr das am 20. Tag erreichte Niveau.

Neben den Atmungs- und Motilitätsmessungen zeigt auch die Lungenschwimmprobe, die selbst bei starker Ventilation des Respirationstraktes in der Regel negativ ausfiel, daß die Atmungstätigkeit nicht zwangsläufig mit einem Gasaustausch über die Lunge verbunden ist. In diesen Fällen gelangt offensichtlich die Luft unter Umgehung der Lunge direkt in die Luftsäcke. Dieses Phänomen tritt auch bei unbeeinflußter Entwicklung auf. *Vince* (53) führt darauf Lautäußerungen der Föten vor Beginn der Lungenatmung zurück.

Unabhängig von einer Atmungstätigkeit überleben die Föten im Ei teilweise bis zum 28. Tag. In dieser Zeit bieten die Chorioallantoisgefäße die einzige Möglichkeit, Sauerstoff und Kohlendioxid auszutauschen. Verschiedentlich durchgeführte Sektionen ergaben dann auch eine gute Durchblutung der Gefäße. Untersuchungen von *Hamel* (20) lassen auf Grund des geringen Hämoglobingehaltes darauf schließen, daß die funktionelle Durchblutung der Lunge in diesen Fällen nicht eingeleitet wird. Weiter haben diese Untersuchungen gezeigt, daß der Gasaustausch auch durch eine Flüssigkeitsansammlung in den Luftkapillaren behindert wird. Es ist seit langem bekannt, daß Thioharnstoff

ödematöse Veränderungen in der Lunge auszulösen vermag (14). In Abschnitt 1 wurde beschrieben, daß im Verlauf der Fötogenese Flüssigkeit in die Luftsäcke und auch in die Lunge gelangt. Im Zusammenhang mit der oben genannten fehlenden funktionellen Durchblutung besteht deshalb aber auch die Möglichkeit, daß diese Flüssigkeit nicht oder in zu geringem Ausmaß resorbiert wird.

Abschließend ist noch zu bemerken, daß die Untersuchungen gezeigt haben, daß das Aktivitätsmuster - konstante Aktivität, "Ruhephase", Aktivitätszunahme - nur in sehr geringem Ausmaß beeinflußt werden kann. Ausgenommen hiervon ist die Verzögerung oder Unterbindung des Anstiegs durch Thioharnstoff. Die anfängliche Vermutung, daß bei einer Entwicklungsbeschleunigung die "Ruhephase" übersprungen wird sowie bei einer verzögerten Entwicklung wie bei Kontrolltieren auf Grund einer Hypoxie bereits am 20. Tag beginnt und sich bis zum Übergang auf die Lungenatmung erstreckt, wurden nicht bestätigt. Ebenso führte die Applikation von L-Thyroxin zu keiner meßbaren Aktivitätssteigerung zwischen dem 17. und dem 19. Tag, noch die von Thioharnstoff zu einer Minderung. Deshalb ist zwar der Zeitpunkt des Atmungsbeginns aus dem Motili-

tätsverlauf zu erkennen, doch zeigen gerade die Untersuchungen mit Thioharnstoff, wie wichtig zum Verständnis des Gesamtgeschehens die Messung beider Parameter ist.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Motilität und Lungenatmung des Hühnerfötus bei unbeeinflußter, beschleunigter und verzögerter Entwicklung untersucht.

Bei der Motilitätsmessung von Kontrolltieren weisen die Aktogramme nach einem Anstieg bis um den 18. Tag ein gleichbleibendes Niveau bis zum 20. Tag auf. In der anschließenden Phase der reduzierten Aktivität setzt die Lungenatmung ein. Auf diese Phase reduzierter Aktivität folgt ein steiler Aktivitätsanstieg, der zum Anpicken der Schale und schließlich zum Schlupf führt.

Unter dem Einfluß von L-Thyroxin wird der Schlupf und in Verbindung damit der Motilitätsverlauf und der Einsatz der Lungenatmung um etwa 24 Stunden beschleunigt.

Die Applikation von Thioharnstoff führte dosisabhängig zu einer Schlupfverzögerung oder unterband ihn völlig.

Bei der niedrigen Dosis (13,15 umol) ist der Motilitätsverlauf und der Einsatz der Lungenatmung verzögert. Eine hohe Thioharnstoffgabe (19,35 umol) führt zu einer

Unterdrückung der Lungenatmung und des steilen Motilitätsanstiegs, der in die Schlupfphase überleitet. In einigen Fällen wurde dabei eine Atmungstätigkeit ohne effektiven Gasaustausch beobachtet.

Daüber hinaus wurde durch die hohe Thioharnstoffgabe eine Zunahme des Sauerstoffverbrauchs sowie eine Änderung des CO_2/O_2-Verhältnisses, wie sie sonst gegen Ende der Entwicklung zu beobachten sind, unterdrückt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen den engen Zusammenhang von Schlupf, Motilität und Lungenatmung.

Summary

Motility and lung respiration of the chick foetus under normal and alterated hatching conditions

In the work, presented here, motility and lung respiration of the chick foetus under normal, accelerated, and delayed development, was investgated by a own developed method.

The motility pattern of controls increases up to day 18 of incubation and thereupon an plateau of activity at about day 20 of incubation is observed. During the period of reduced activity at day 20 of incubation respiration is initiated. Following the period of reduced activity a steep increase of activity is observed which leads to pipping of the egg shell and finaly to hatching.

Under the influence of L-thyroxine hatching time is accelerated by about 24 hours. Furthermore, the course of motility pattern and the onset of lung respiration are also accelerated.

Treating the embryos with thiourea released a delay or a total prevention of hatching, dependent on the dose of the antithyroid drug.

Compared with controls under the low dose of thiourea (13,15 umol) the course of motility pattern and the onset of lung respiration is retarded. A high dose (19,35 umol) leads to the suppression of lung respiration and of the steep activity increase, which initiates hatching. In a few cases, respiratory movements without effective gas exchange was observed.

Furthermore, in foetus treated with a high dose of thiourea the increase of embryonic oxygen consumption and of CO_2/O_2 ratio which both occur normally at the end of incubation, are prevented.

The findings of these experiments indicate an intimate interrelationship between hatching, motility and lung respiration.

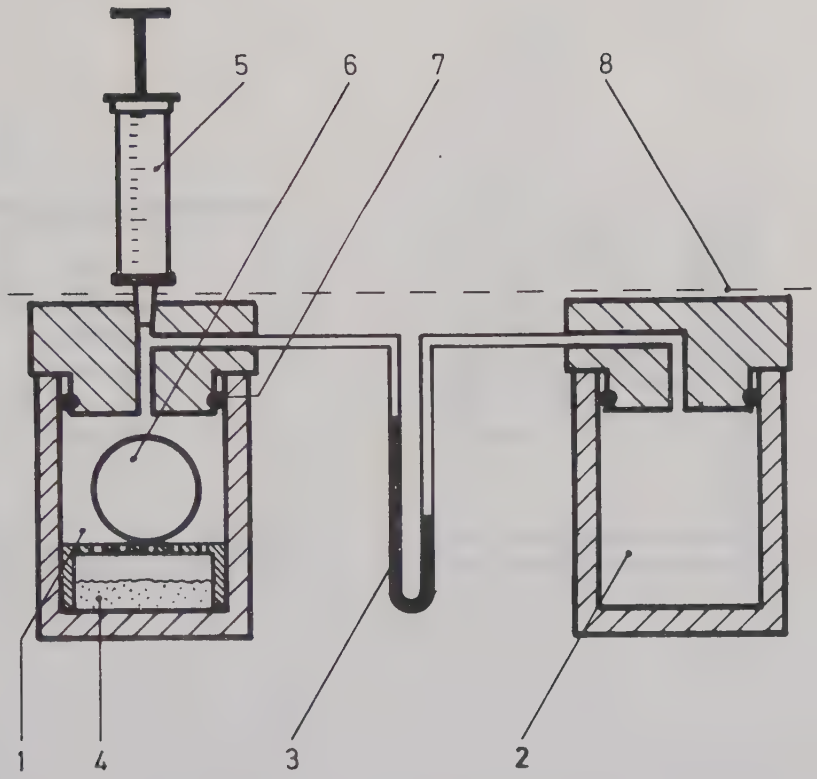

Abb. 1: Anordnung zur Messung des Sauerstoffverbrauchs

1 Meßkammer
2 Ausgleichskammer
3 U-Rohr
4 Kohlendioxid absorbierendes Medium
5 Sauerstoffgefüllte Spritze
6 Ei
7 Dichtungsring
8 Eintauchtiefe

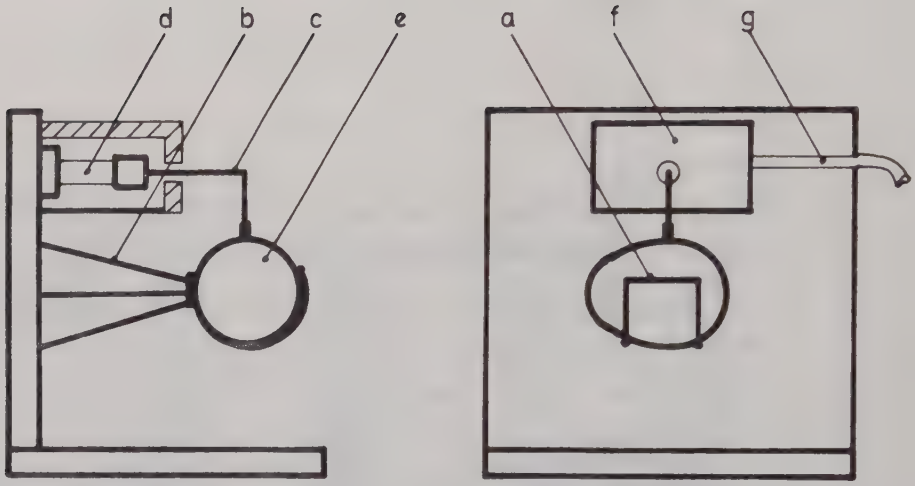

Abb. 2: Anordnung zur Messung der Motilität

- a Einhalterung
- b Feder
- c Bügel
- d Mech.-elektr. Wandler
- e Ei
- f Schutzkappe
- g Leitung (zum Verstärker)

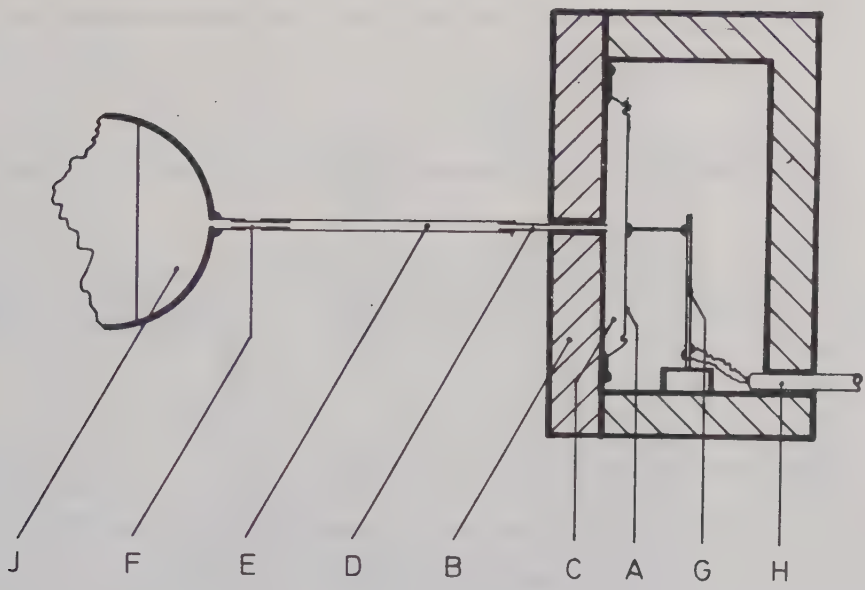

Abb. 3: Anordnung zur Messung der Lungenatmung

A Membran
B Platte
C Druckkammer
D Anschlußröhrchen
E Verbindungsschlauch
F Adapterröhrchen
G Mechanisch-elektrischer Wandler
H Leitung (zum Verstärker)
I Luftkammer am stumpfen Pol des Eies

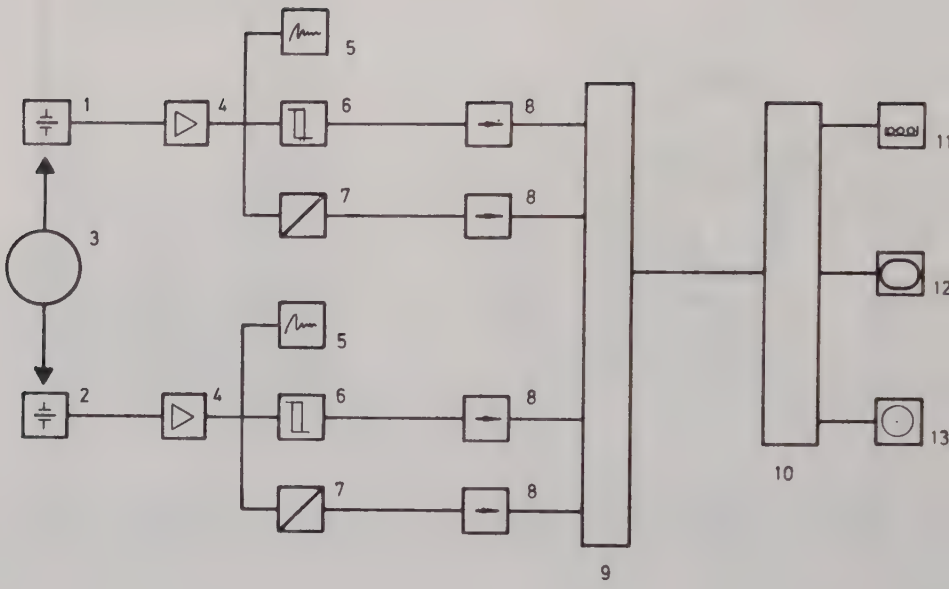

Abb. 4: Elektronik des Versuchsaufbaus.
(Gezeichnet: 1 Meßplatz zur Messung von 1 Ei)

1	Wandler (Atm. mess.)	8,9	Datenschnittstelle
2	Wandler (Mot. mess.)	8	Zähler
3	Ei	9	Steuerlogik
4	Verstärker	10	Computer
5	Schreiber	11	Drucker
6	Impulsformer	12	Monitor
7	Intensitätsmeßeinheit	13	Diskettenspeicher

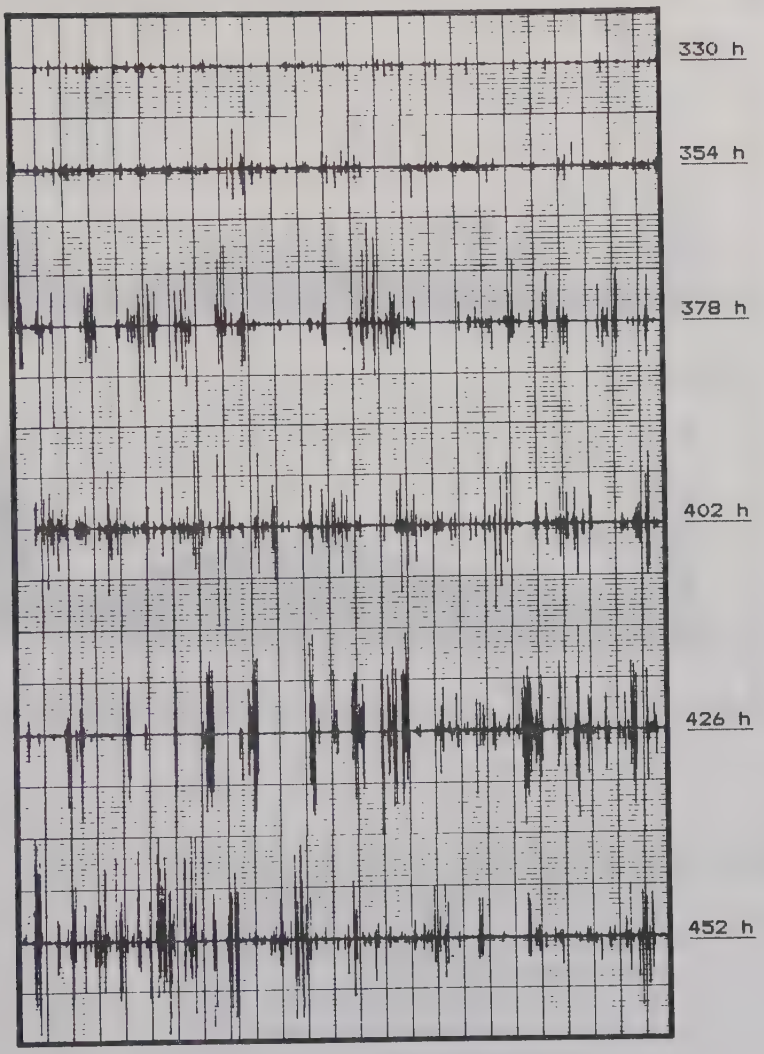

Abb. 5: Fötale Motilität (14. - 19.Tag)

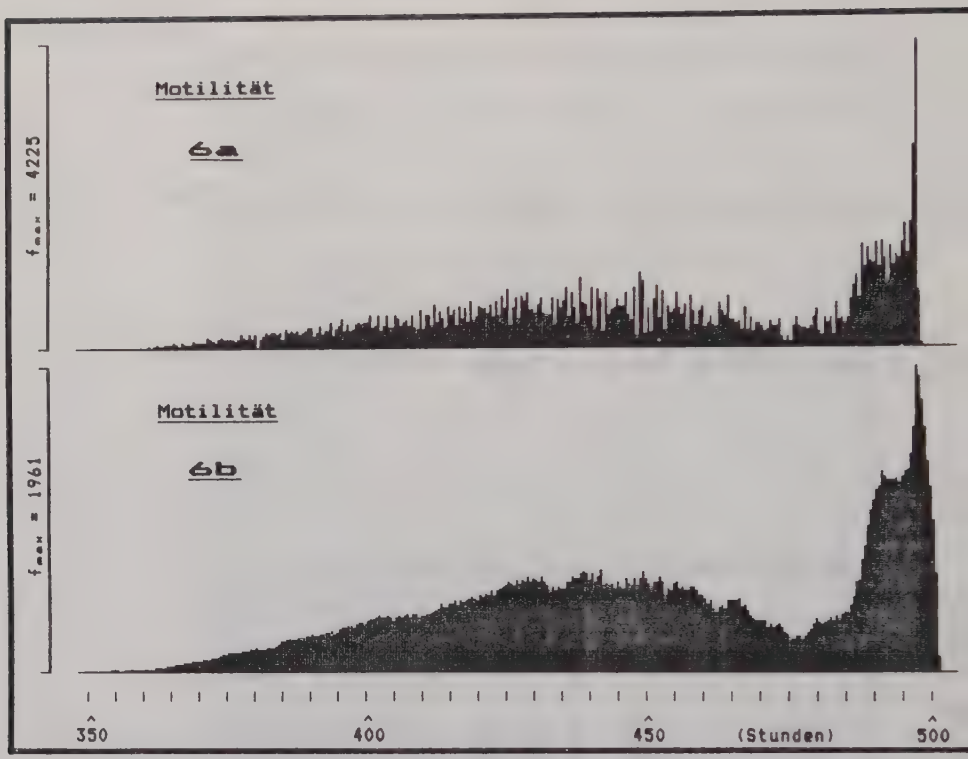

Abb. 6: Fötale Motilität vom 15. bis zum 21.Tag bei unbeeinflußter Entwicklung.
(Aktogramme mit und ohne Mittelwertberechnung).
Bewegungsfrequenz/30min
oben: ohne Mittelwertbildung
unten: mit gleitendem Mittelwert über 8 Meßintervalle

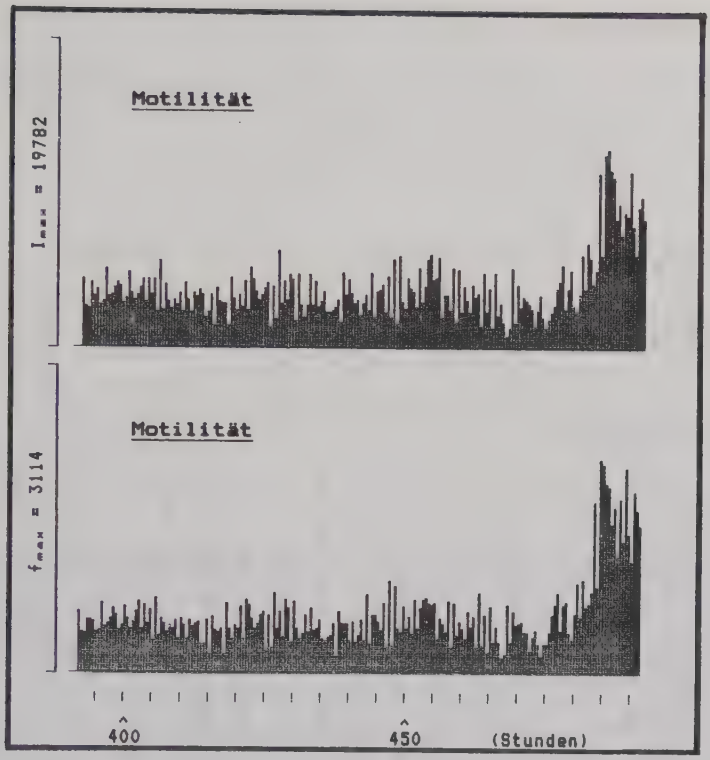

Abb. 7: Fötale Motilität: Vergleich von Bewegungsfrequenz und Bewegungsintensität.
Meßintervallzeit: 30min
oben: Bewegungsintensität
unten: Bewegungsfrequenz

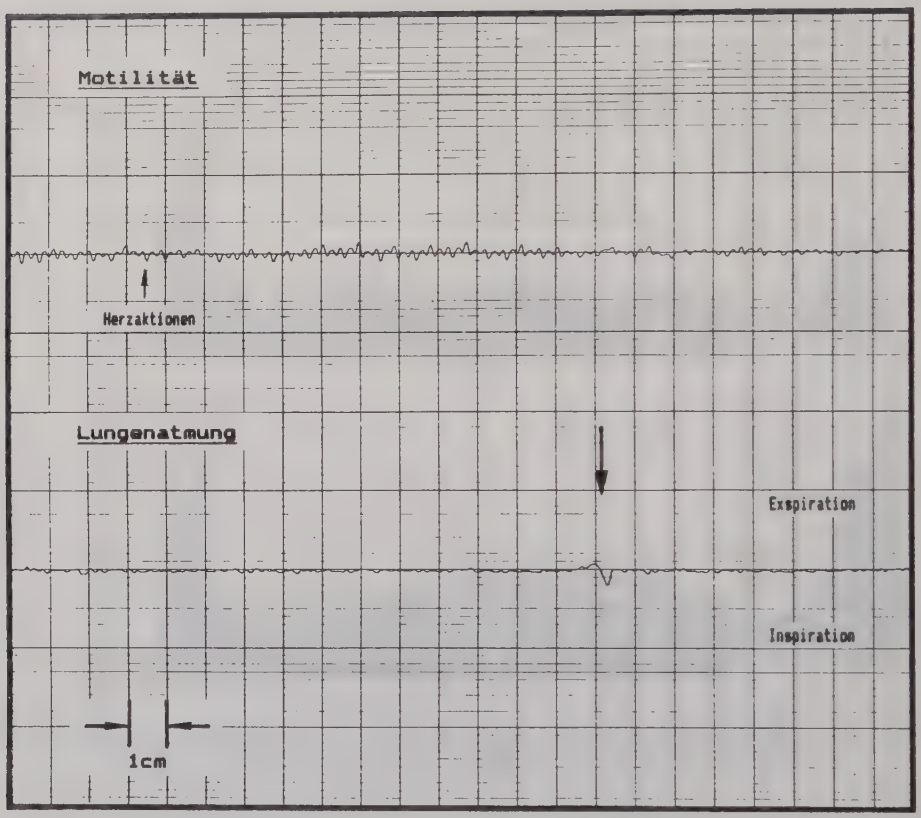

Abb. 8: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 469 h
(Beginn der Lungenatmung. Der Pfeil zeigt auf einen Atemzug).
Aufzeichnungsgeschindigkeit: 600 mm/min

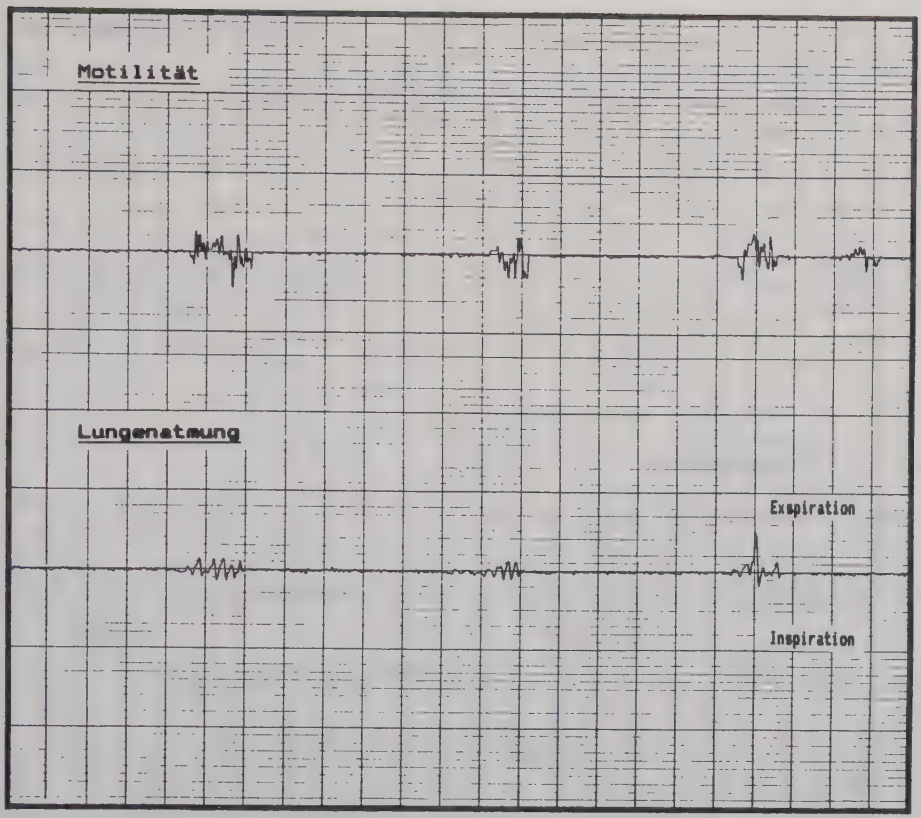

Abb. 9: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 469 h 30 min
(Parallel zur Aktivität treten kurze Atmungssequenzen auf).
Aufzeichnungsgeschindigkeit: 600 mm/min

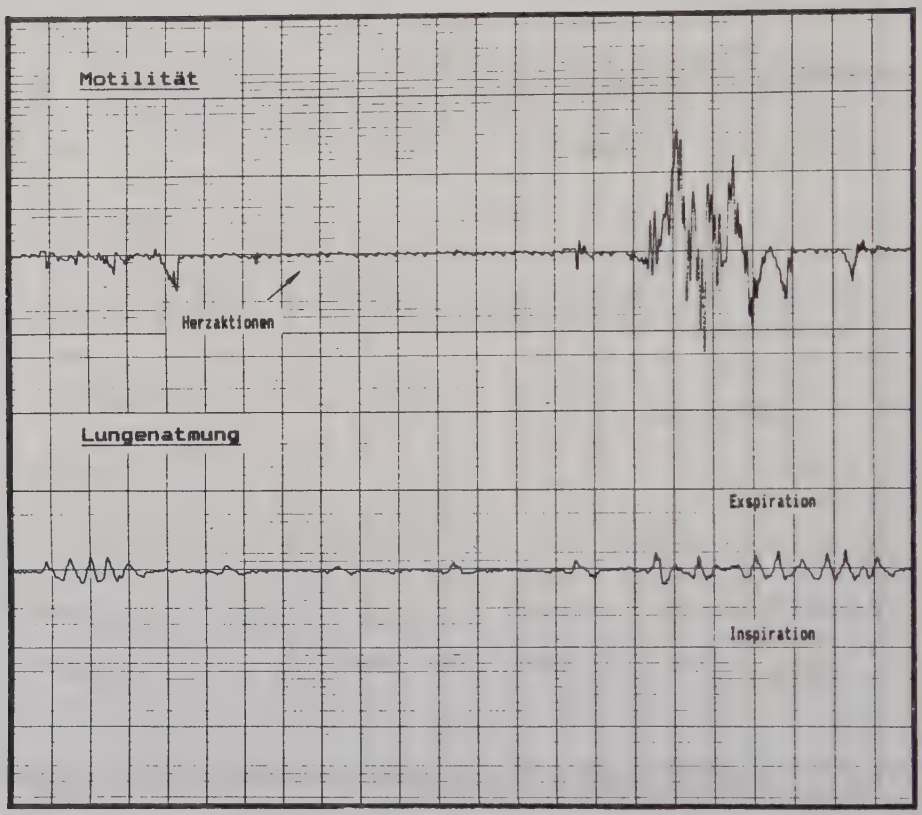

Abb. 10: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 471 h 30 min
(Zwischen den Atmungssequenzen erscheinen rhythmische Atemzüge).
Aufzeichnungsgeschindigkeit: 600 mm/min

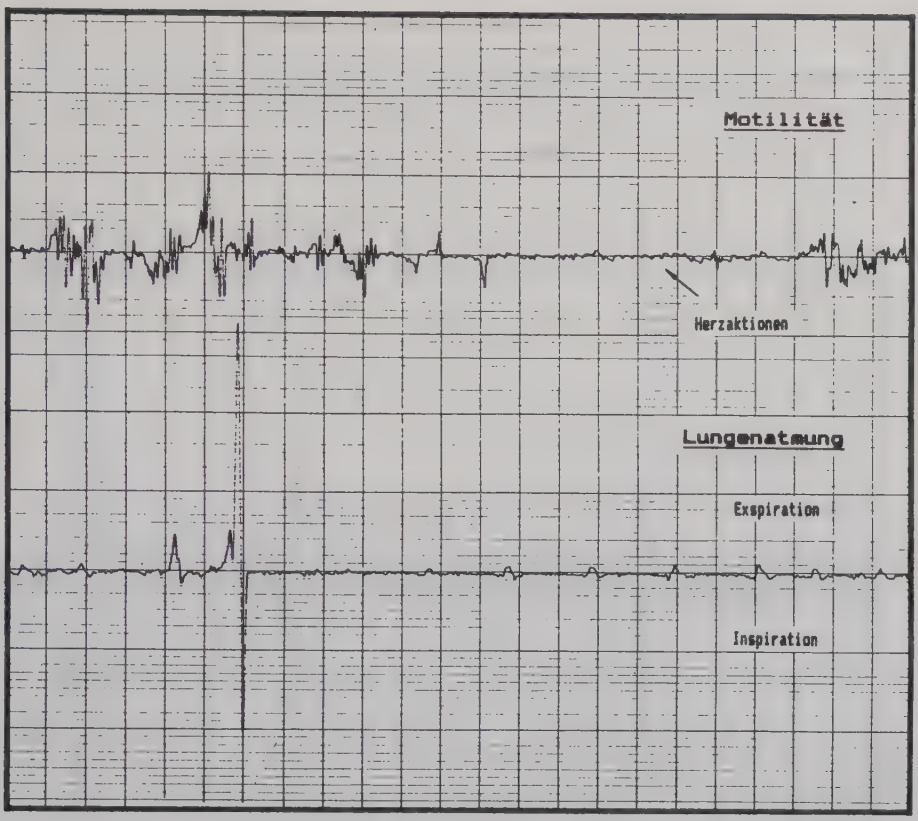

Abb. 11: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 472 h
(Sporadisch treten tiefe In- und Exspirationen auf.)

Aufzeichnungsgeschindigkeit: 600 mm/min

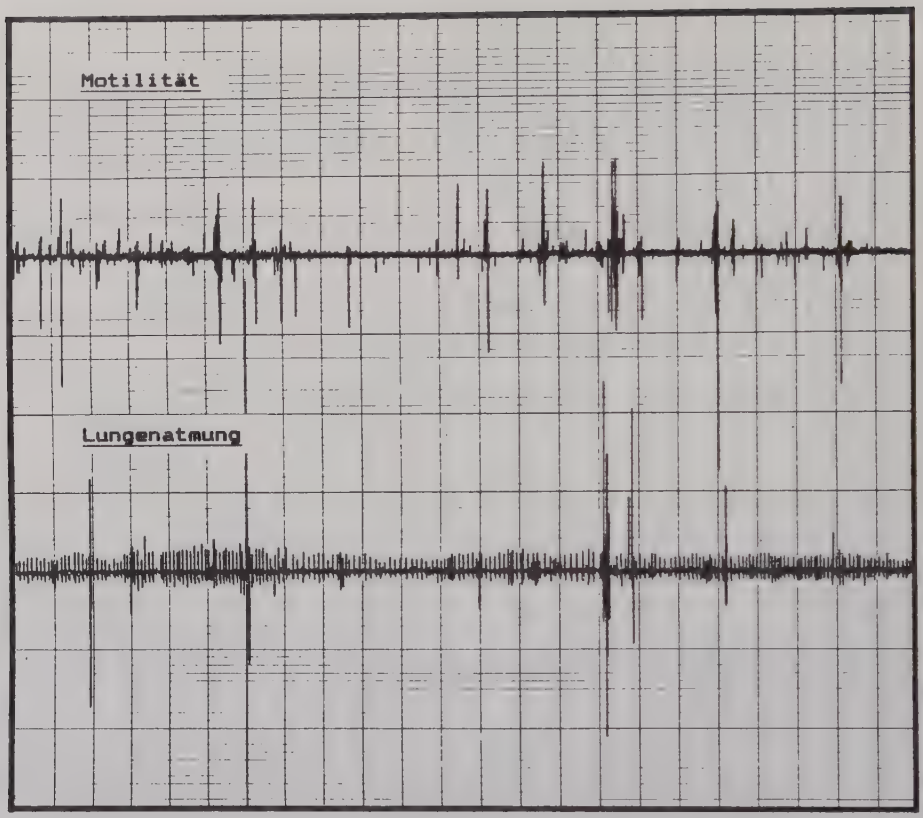

Abb. 12: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 472 h
(Rhytmische Lungenatmung mit sporadischen tiefen In- und Exspirationen. Die Aufzeichnungsgeschwindigkeit wurde gegenüber Abb. 11 um den Faktor 20 vermindert).
Aufzeichnungsgeschindigkeit: 30 mm/min

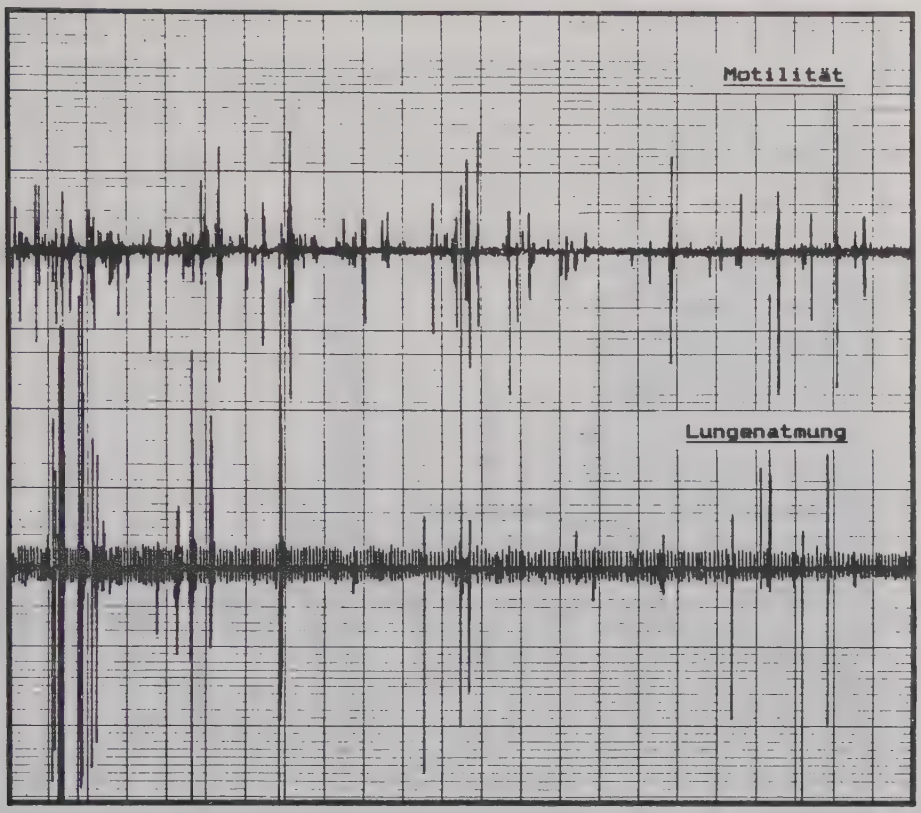

Abb. 13: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 473 h 30 min
(Erneute Bildung von Atmungssequenzen).
Aufzeichnungsgeschindigkeit: 30 mm/min

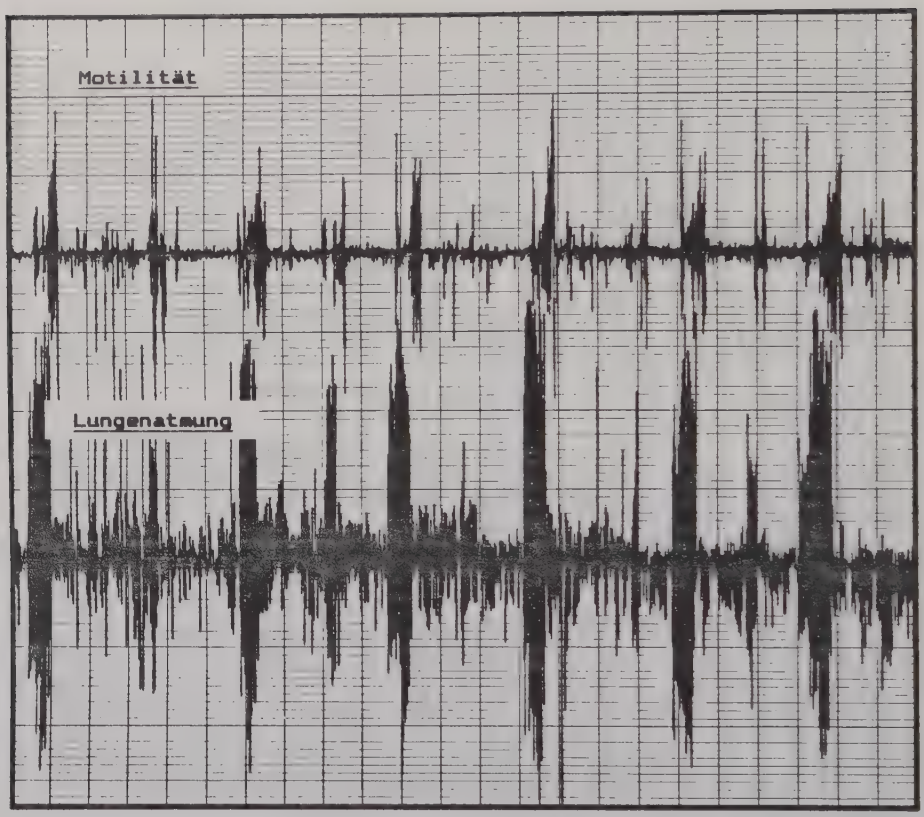

Abb. 14: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 475 h
(Atmungssequenzen vor dem Übergang zur tiefen, regelmäßigen Lungenatmung).
Aufzeichnungsgeschwindigkeit: 30 mm/min

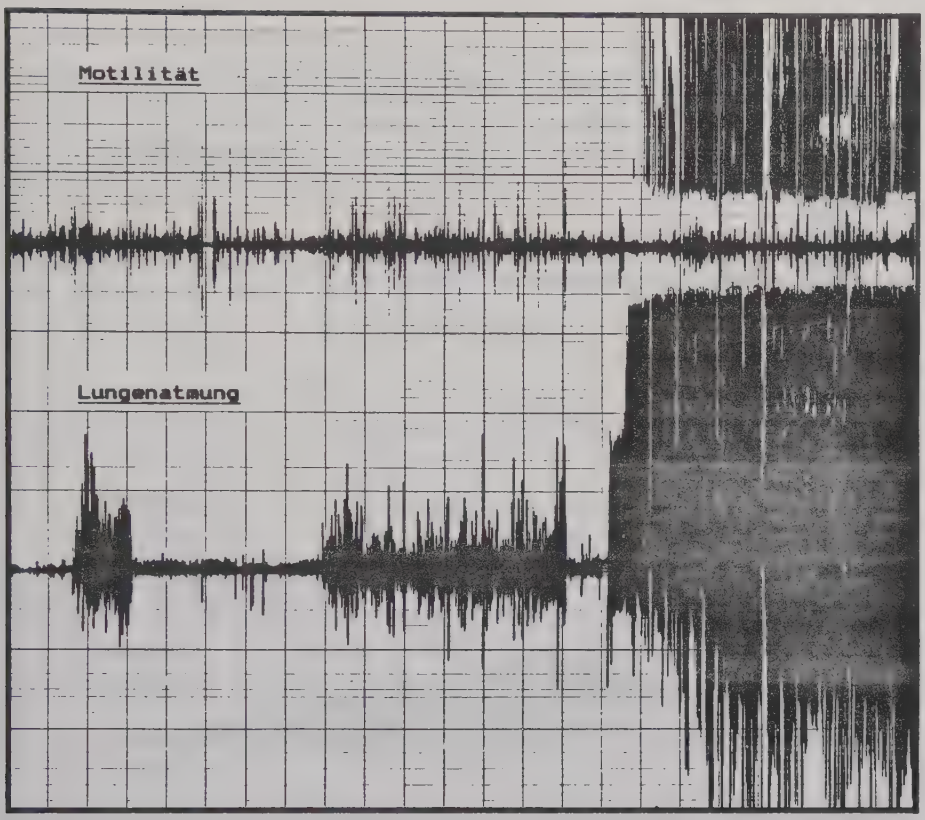

Abb. 15: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 477 h
(Übergang zur tiefen, regelmäßigen Lungenatmung innerhalb weniger Minuten. Die Verstärkung wurde gegenüber den Abb. 8 bis 15 um den Faktor 3 erniedrigt).
Aufzeichnungsgeschwindigkeit: 30 mm/min

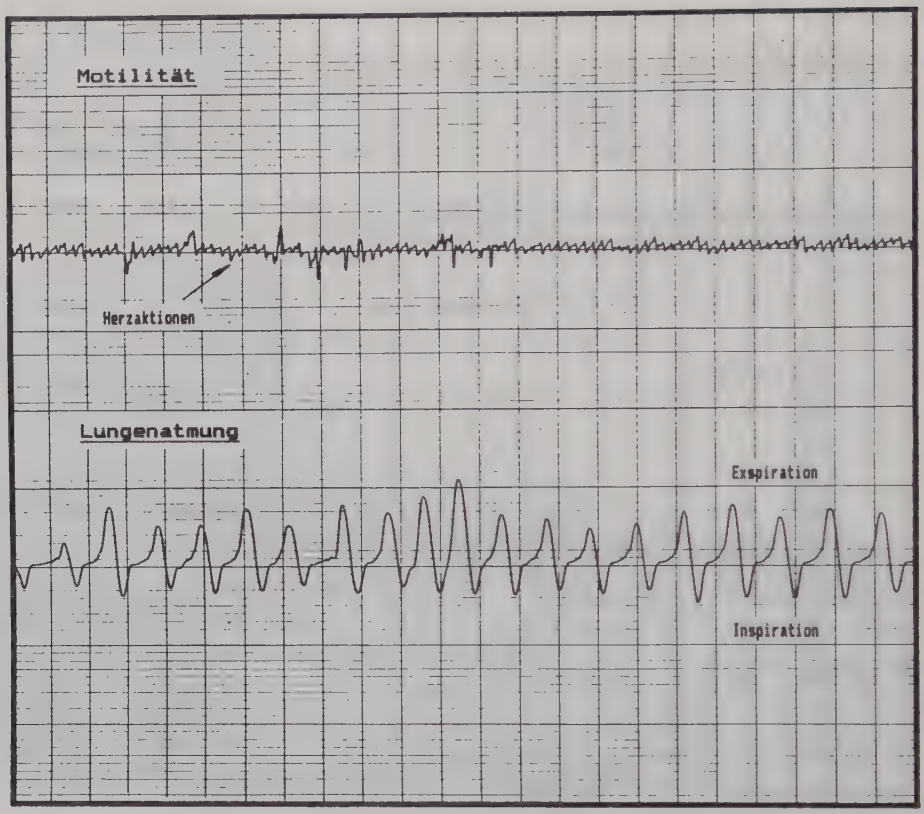

Abb. 16: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (20.Tag).
Inkubationszeit: 479 h
(Voll ausgebildete Lungenatmung.
Die Verstärkung wurde gegenüber den
Abb. 8 bis 15 um den Faktor 30 erniedrigt).
Aufzeichnungsgeschwindigkeit: 600 mm/min

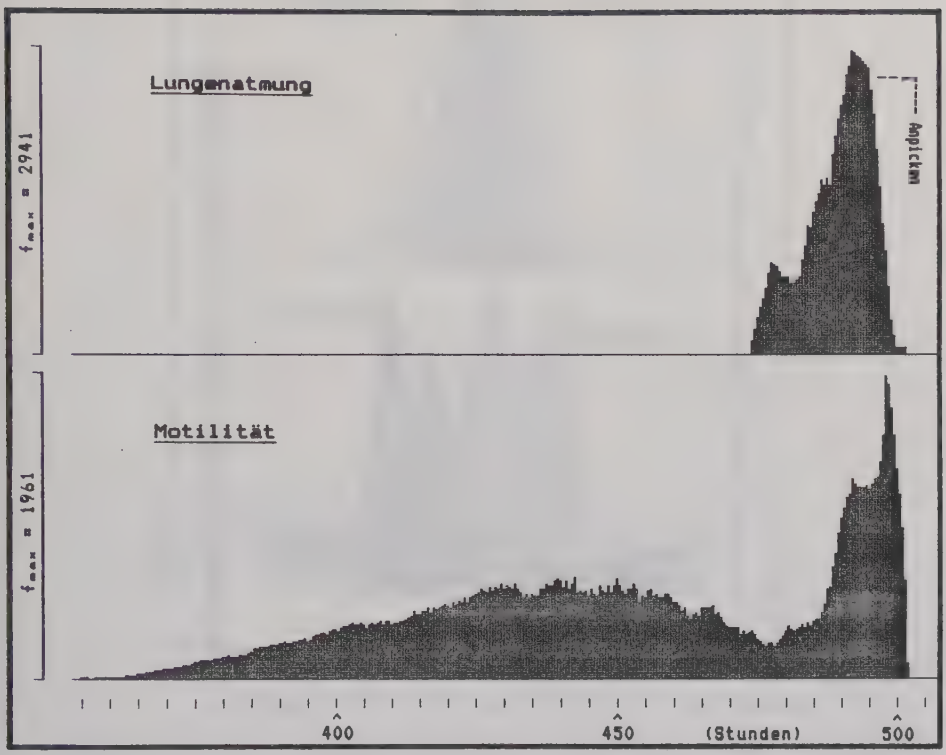

Abb. 17: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (15. - 21.Tag).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

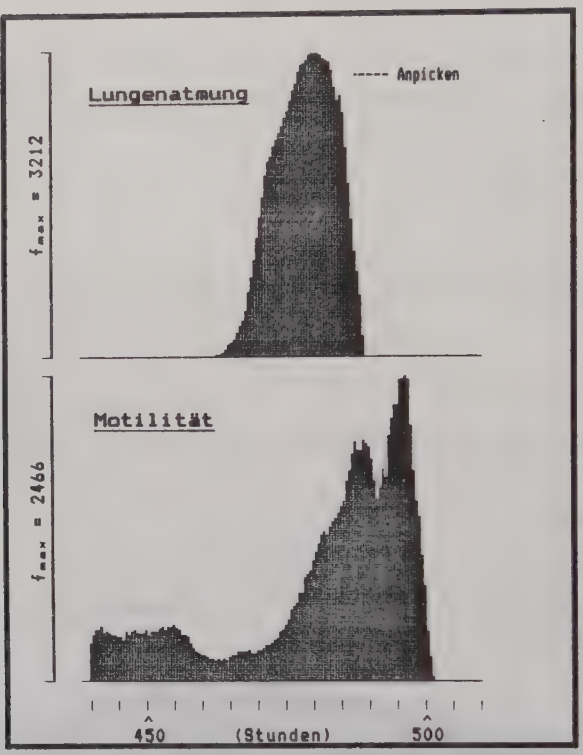

Abb. 18: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (19. - 21.Tag).
(Atmungsbeginn in der Phase der verminderten Aktivität. Die Atmungsfrequenz nimmt in den ersten Stunden kontinuierlich zu).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

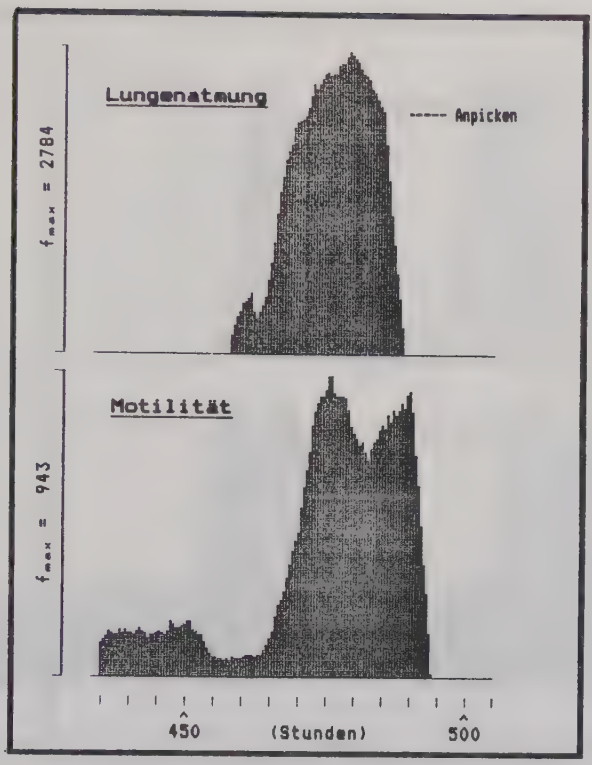

Abb. 19: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (19. - 21.Tag).
(Triggerschwelle für die Motilitätsmessung angehoben)
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

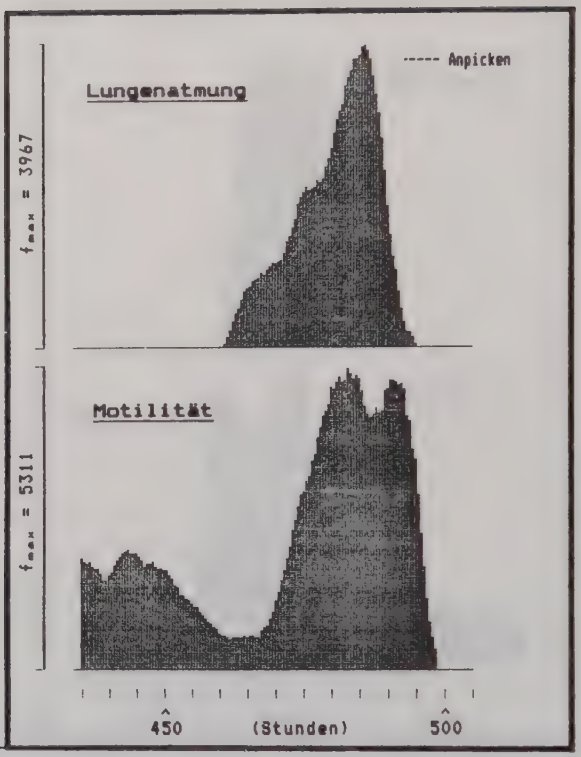

Abb. 20: Motilität und Lungenatmung bei unbeeinflußter Entwicklung (19. - 21.Tag).
(Triggerschwelle für die Motilitätsmessung abgesenkt)
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

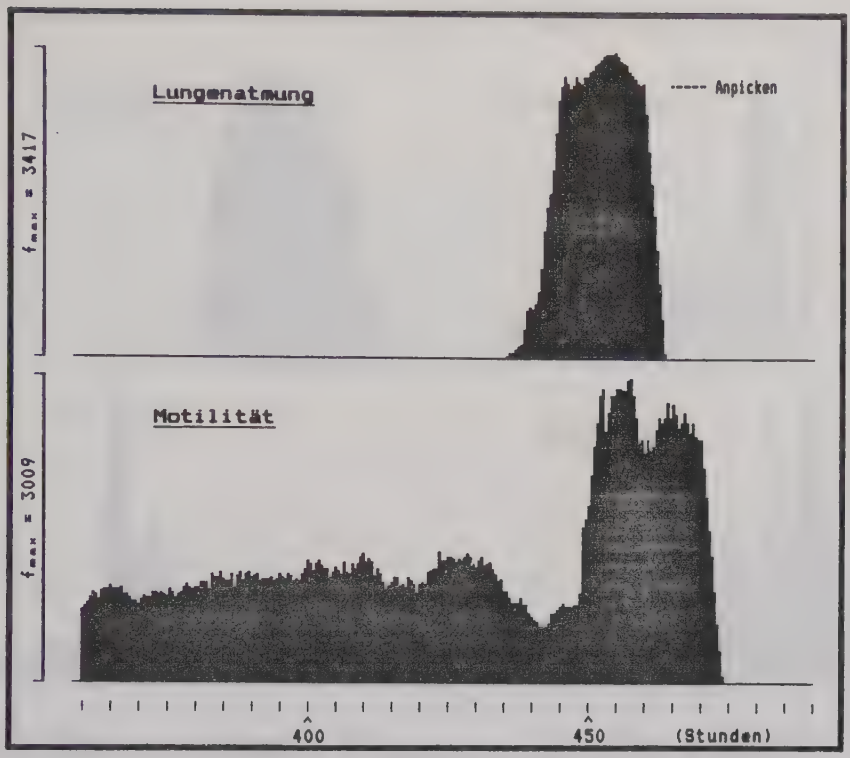

Abb. 21: Beschleunigung des Schlupfes durch L-Thyroxin (16. - 20.Tag).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

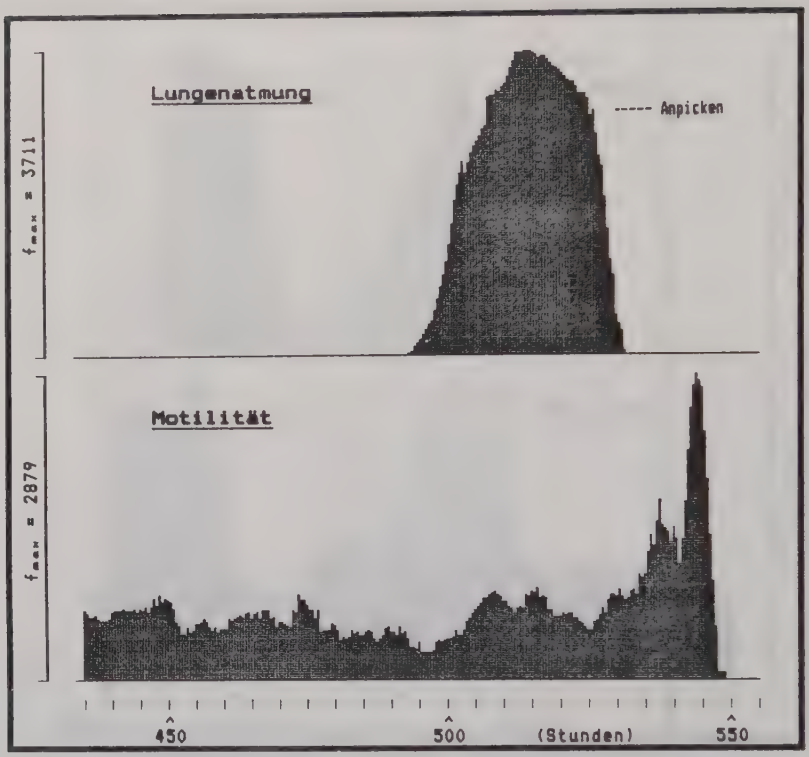

Abb. 22: Verzögerung des Schlupfes durch Thioharnstoff Entwicklung (19. - 23.Tag).
(Trotz starker Atmungstätigkeit bleibt die Motilität bis zum Anpicken auf niedrigem Niveau.)
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

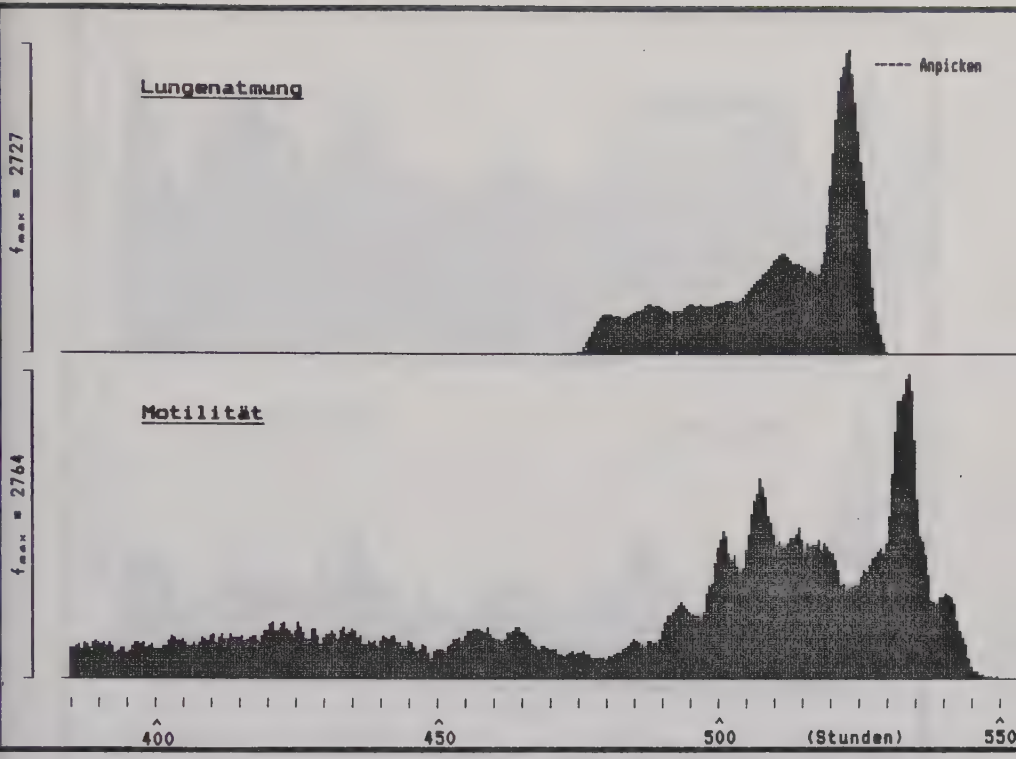

Abb. 23: Verzögerung des Schlupfes durch Thioharnstoff Entwicklung (17. - 23.Tag).

(Die Lungenatmung beginnt am 20.Tag. Die Aktivität nimmt trotz geringer Atmungstätigkeit zu).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

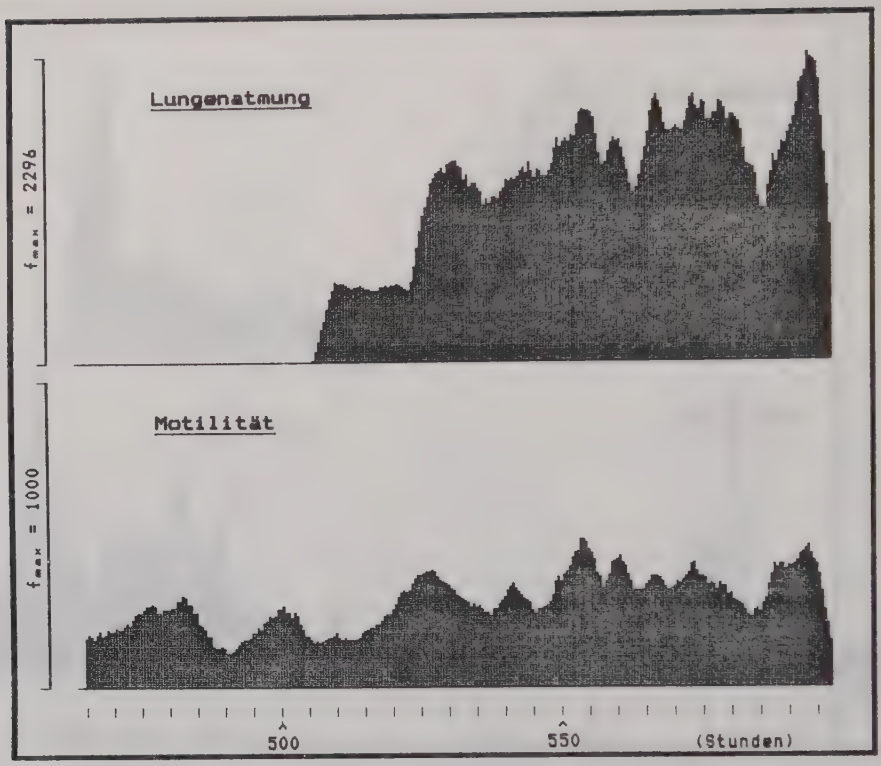

Abb. 24: Unterbindung des Schlupfes durch Thioharnstoff Entwicklung (20. - 25.Tag).

(Das Anpicken erfolgte an der Spitze des Eies. Trotz starker Atmungstätigkeit nimmt die Motilität nur minimal zu).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

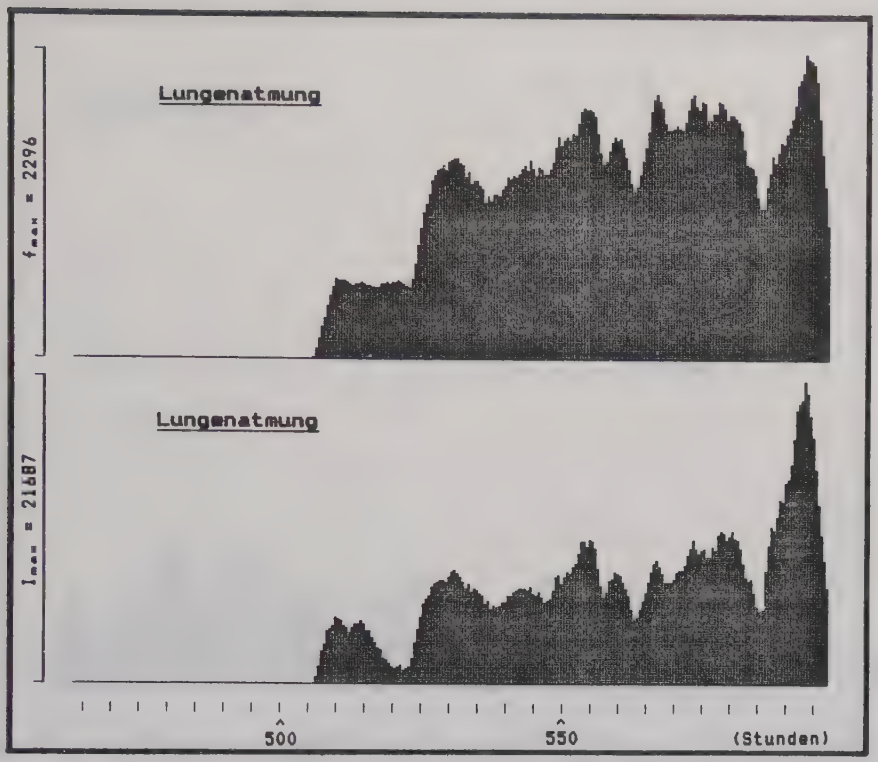

Abb. 25: Unterbindung des Schlupfes durch Thioharnstoff Entwicklung (20. - 25.Tag).

(Der Frequenz/Intensitäts-Vergleich der Lungenatmung zeigt, daß der stagnierende Sauerstoffverbrauch nicht in einer schlechten Ventilation des Respirationstraktes begründet ist).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Atmungsintensität

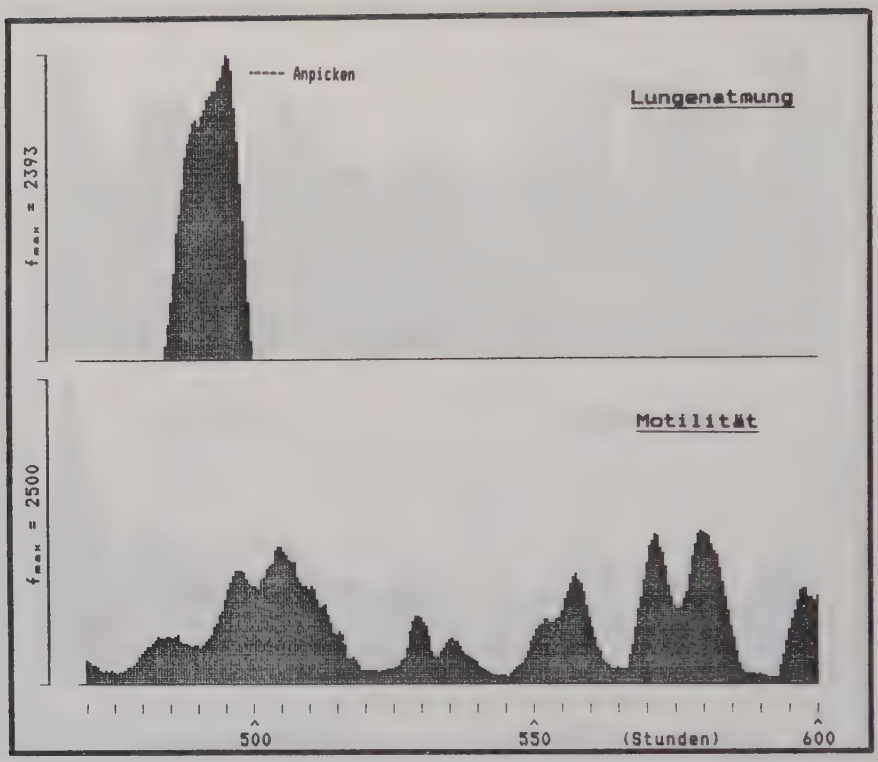

Abb. 26: Unterbindung des Schlupfes durch Thioharnstoff Entwicklung (20. - 25.Tag).

(Die physiologische Schlupfposition wurde eingenommen. Trotz guter Atmungstätigkeit nimmt die Motilität nur kurzfristig zu).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

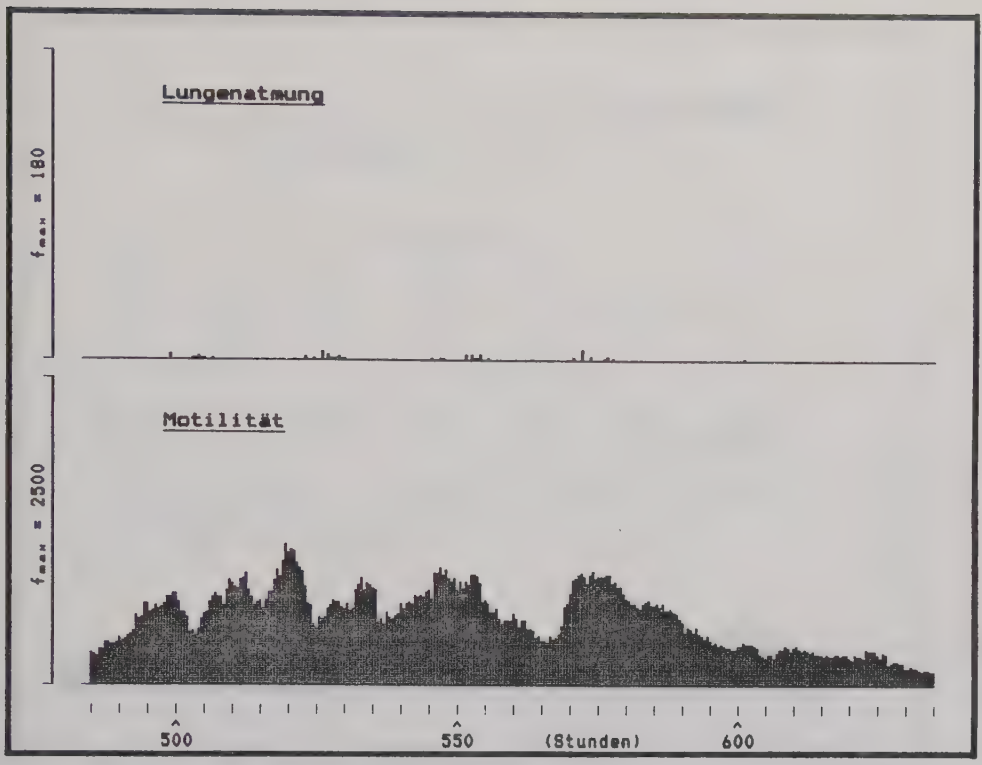

Abb. 27: Unterbindung des Schlupfes durch Thioharnstoff Entwicklung (21. - 27.Tag).

(Die Schale wurde nicht mehr angepickt. In ca. 24-stündigen Abständen tritt minimale Atmungstätigkeit auf).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

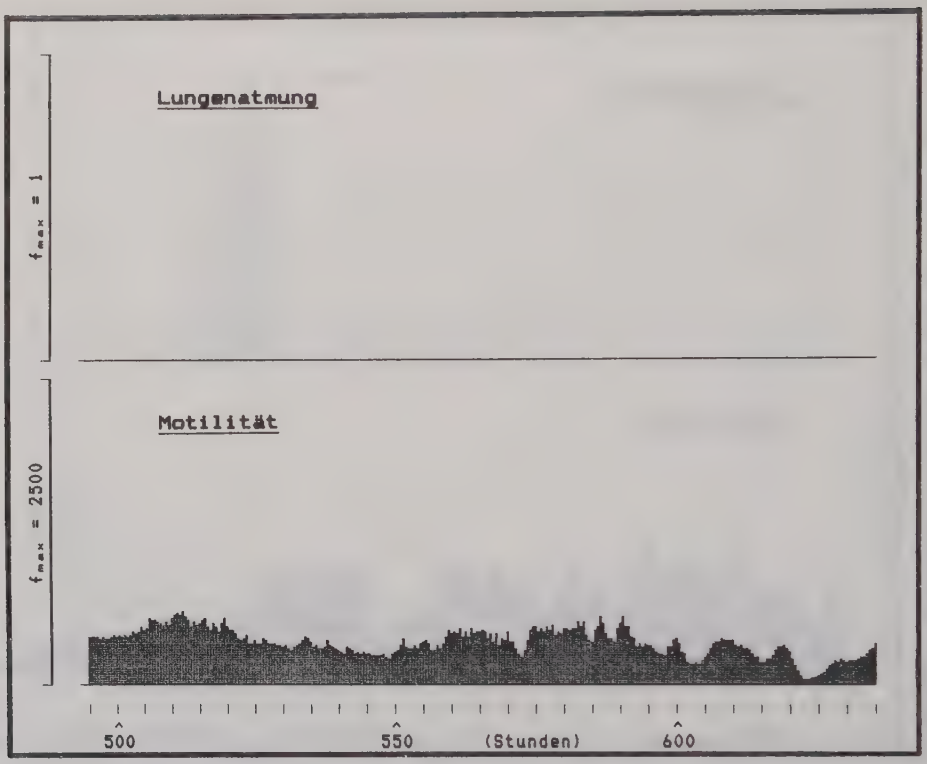

Abb. 28: Unterbindung des Schlupfes durch Thioharnstoff Entwicklung (21. - 27.Tag).

(Vollständige Unterdrückung der Lungenatmung. Die Motilität verändert sich nur noch geringfügig).
Meßintervallzeit: 30min
oben: Atmungsfrequenz
unten: Bewegungsfrequenz

Tabelle 1: Einfluß von Thioharnstoff auf den Sauerstoffverbrauch

ml/h \ Inkubation (Tage)	17	18	19	20	21	22-25
Kontroll-	17,1±3,5	18,4±1,4	18,0±2,1	19,8±3,3	31,1±7,2	
tiere	n = 7	9	9	16	11	
thio.beh.		18,9±2,9	18,8±3,4	19,4±3,7	19,0±3,74	19,4±5,3
Tiere	n =	8	9	12	29	21

Thioharnstoffdosis: 19,35 umol
n = Anzahl der Embryonen

Tabelle 2: Einfluß von Thioharnstoff auf die Gaszusammensetzung in der Luftkammer

% \ Inkubation (Tage)		18	19	20	21	22-25
Kontr.	O_2	18,22±0,76	17,51±0,52	16,21±1,02		
Tiere	CO_2	2,38±0,63	3,29±0,45	4,16±0,72		
	n	13	12	7		
thio.	O_2	18,53±0,50	18,20±0,60	18,35±1,08	18,37±1.22	18,67±0,67
beh.	CO_2	2,39±0,46	3,09±0.89	2,59±0,90	2,21±0,90	2,39±0,78
Tiere	n	7	14	10	23	15

Thioharnstoffdosis: 19,35 umol
n = Anzahl der Embryonen

5. Literaturverzeichnis

1 Bakhuis W. L., (1974) Observations of the hatching movements of the chick (gallus domesticus). J. of Comp. and Physiol. Psychology, 87, 997 - 1003.

2 Balaban M. and Hill J., (1969) Perihatching behaviour patterns of chick embryos. Anim. Behav., 17, 430 - 439.

3 Balaban M. and Hill J., (1971) Effects of thyroxine level and temerature manipulations upon the hatching of the chick embryos (gallus domesticus). Developmental Psychology, 4, 17 -36.

4 Beyer R. F. (1952) The effect of thyroxine upon the general metabolism of the intact embryo. Endocrinology 50, 497 - 503.

5 Bouisfield, W. A. and Mote F. A., (1943) The construction of a tilting activity cage.

J. Exp. Psych. 32, 450 - 451.

6 Corner M. A., (1969) Developmental patterns in the central nervous system of birds. V. Cerebral electrical activity, forebrain function and behavior in the chick at the time of hatching. Brain research, 13, 541 - 555.

7 Dawes M. C., (1973) The effects of anoxia on the respiratory movements of the hatching chick. Comp. Biochem. Physiol., 46A, 421 -425.

8 Dawes M. C., (1975) The effects of carbon dioxid on the respiratory movements of the hatching chick. Comp. Biochem. Physiol., 52A, 291 - 294.

9 Dawes M. C., (1976) A method for recording the respiration and hatching movements of the chick embryo. J. Exp. Biol., 64, 379 - 383.

10 Dawes M. C. and Simkiss K. (1969) The acid-

base status of the blood of the developing chick embryo. J. Exp. Biol. 50, 79 - 86.

11 Decker J. D. and Hamburger V., (1967) The influence of different brain regions on periodic motility of the chick embryo. J. Exp. Zool. 165, 371 - 380

12 Eayrs J. T., (1951) The activity of the female albino rat during lactation. J. Endocrinology 7, 349 - 356.

13 Eayrs J. T., (1953) An apparatus for analysing the pattern of spontaneous activity in laboratory animals. Brit. J. Anim. Behaviour 2, 20 - 24

14 Enders E., (1970) Organische Rodentizide. Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Hrsg. Wegler, R. 1, 603 - 607.

15 Freeman B. M., (1962) Gaseous metabolism in the domestic chicken - II. Oxygen consumption

in fullterm and hatching embryo, with a note on a possible cause for 'death in shell'. Br. Poult. Sci. 3, 63 - 72.

16 Freeman B. M. and Mission B. H., (1970) pH, pCO_2 and pCO_2 of blood from the foetus and neonate of Gallus Domesticus. Comp. Biochem. Physiol. 33, 763 - 772.

17 Freeman B. M., (1974) Development of the avian embryo - 15. Physiology of hatching. Chapman and Hall, London. 249 - 260.

18 Hamburger V., Balaban M., Oppenheim R. and Wenger E., (1966) Periodic motility of normal and spinal chick embryos between 8 and 17 days of incubation. J. Exp. Zool., 159, 1 - 14.

19 Hamburger V. and Oppenheimer R., (1967) Pre-hatching motility and hatching behaviour in the chick. J. Exp. Zool., 166, 171 - 204.

20 Hammel W., (1983) Über den Lipidstoffwechsel

der Kükenlunge im Verlauf der perinatalen Entwicklungsphase. Diss. med vet. München

21 Hoiby M., Arnfinn A. and Ola B. R. (1983) Oxygen uptake in fowl eggs incubated in air and pure oxygen. Comp. Biochem. Physiol. 77, 315 - 318.

22 Kovach J., (1968) Spatial orientation of the chick during the last five days of incubtion. J. of Comp. and Physiol. Psychology, 66, 283 - 288.

23 Kovach J., (1970) Development and mechanisms of behavior in the chick embryo during the last five days of incubation. J. of Comp. and Physiol. Psychology, 73, 392 - 406.

24 Kovach J., Callies D., Hartzell R., (1970) Procedures for the study of behavior in avian embryos. Developmental Psychobiology, 3(3), 169 - 178.

25 Kuo Z. Y., (1932) Ontogeny of embryonic

behaviour in aves. I. The chronology and general nature of the behaviour of the chick embryo. J. Exp. Zool. 61, 395 - 430.

26 Kuo Z. Y. an Shen T. C. R., (1937) Ontogeny of embryonic behaviour in aves. XI. Respiration in the chick embryo. J. Exp. Zool. 61, 395 - 430.

27 Lokhorst W. and Romijn C. (1965) Some preliminary observations on barometric pressure and incubation. Energy metabolism, Blaxter K. 1. (Academic Press London - New York), 419 - 424.

28 Nair G. and Dawes C. M., (1980) The effects of cooling the egg on the respiratory movements of the hatching quail (Coturnix C. japonicus). Comp. Biochem. Physiol., 67, 587 - 592.

29 Nielson E.T., (1957) Use of electronic flash for record the activity of small animals. Nature 179, 1300 (Mc Millan and Co., Ltd.,

New York - London)

30 Nothdurft, H. und Eisenbeisser H. E. (1944) über Ernährung und motorische Aktivität, III. Mitteilung: Abhängigkeit der Spontanaktivität weißer Mäuse von Art und Menge des Nahrungseiweißes (motorisch bestimmtes Eiweißminimum). Pflügers Arch. ges. Physiol. 248, 21 -38.

31 Oppenheim R. and Narayan C. H., (1968) Experimental studies on the hatching behaviour in the chick: Thoracic spinal gaps. J. Exp. Zool. 168, 387 - 394.

32 Oppenheim R., (1973) prehatching and hatching behavior. Behavioral embryology, Gottlieb G. (ed.) 1, 212 - 244.

33 Paganelli C. V., Ar A., Rahn H. and Wangensteen O.D., (1975) Diffusion in the gas phase phase: The effects of ambient pressure and gas composition. Resp. Physiol. 25, 247 - 258

34 Petry H., (1977) Ein Beitrag zur Bestimmung des Energieumsatzes von Tieren im Respirationsversuch unter dem besonderen Aspekt ihrer nicht ausschaltbaren Spontanmotorik. Habilitationsschrift der Tierärztlichen Fakultät München

35 Petry H. and Wittmann J., (1978) A new method for recording spontaneous activity of chicken embryos in intact eggs. Poult. Sci. Vol. 57, No. 5.

36 Petry H., (1983) Optisch-optoelektronisches Verfahren zur Registrierung der Spontanaktivität von Tieren. Z. Versuchstierk. 25. 38 -49.

37 Prinzinger R., Maisch H. und Hund K., (1979) Untersuchungen zum Gasstoffwechsel des Vogelembryos: I. Stoffwechselbedingter Gewichtsverlust, Gewichtskorrelation, tägliche Steigerungsrate und relative Gesamtenergieproduktion. Zool. Jb. Physiol. 83, 180 - 191.

38 Romanoff A. L., (1960) The avian embryo. Mac Millan Co., New York, 249 - 260.

39 Romanoff A. L., (1941) The study of the respiration behavior of individual chicken embryos. J. cell. comp. Physiol. 18, 199 - 214.

40 Romanoff A. L., (1967) Biochemistry of the avian embryo. John Wiley, New York, 143 - 176

41 Romijn C. and Lokhorst W., (1951) Foetal respiration in the hen egg. Phys. Comp. Oecel. 2, 187 -197.

42 Romijn C.and Roos J.,(1938) The airspace of the hen's egg and its changes during the period of incubation. J. Physiol. 94, 365 - 379.

43 Salter S. H., (1966) A note on the recording of egg activity. Anim. Behav. 14, 41 - 43.

44 Scholander P. F. and Edwards G. A., (1942)

Micro respiration apparatus. Rev. Sci. Instruments 13, 292 - 295.

45 Stoddart H. L., (1931) The bobwhite quail. Scribney's, New York, 54 - 56.

46 Tazawa H., Ar A., Rahn H. and Piiper J. (1980) Repetitiv and simultaneous sampling from the air cell and blood vessels in the chick embryo

47 Tazawa H. and Mochizuki M., (1976) Rates of oxygen and Bohr shift of capillary blood in chick embryos. Nature (London) 261, 509 - 511

48 Tullet S. G., (1975) Regulation of the avian eggshell porosity. J. Zool. 177, 339 - 438.

49 Tullet S. G. and Board R. G., (1977) Determinants of the avian eggshell porosity J. Zool. 183, 203 - 211.

50 Vince M. A. and Green J., (1970) Acceleration of hatching in the domestic fowl. British

Poultry Science 11, 483 - 488.

51 Vince M. A., (1973) Some environmental effects on the activity and development of the avian embryo. Behavioral embryology I, Gottlieb G. (ed.), Academic Press, New York, 285 - 323.

52 Vince M. A., Misson B. H. and Freeman B. M., (1975) Blood gas partial pressures and the onset of lung ventilation in the chick embryo. Comp. Biochem. Physiol., 51A, 457 - 463

53 Vince M. A., (1976) Behaviour and aeration of the respiratory system in the domestic fowl embryo. J. Physiol. 263, 465 - 474.

54 Vince M. A., Reader M., Tolhurst B., (1976) Effects of stimulation on embryonic activity in the chick. J. of Comp. and Physiol. Psychology, 90, 221 - 230.

55 Visschedijk A. H. J., (1968) The air space and embryonic respiration. 1. The pattern of

gaseous exchange in the fertile egg during the closing stages of incubation. Br. Poult. Sci. 9, 173 - 184.

56 Visschedijk A. H. J., (1968) The air space and embryonic respiration. 2. The times of pipping and hatching as influenced by an artificially changed permeability of the shell over the air space. Br. Poult. Sci. 9, 185 - 196.

57 Visschedijk A. H. J., (1962) Praenatale Gas-wisseling bij de Kijp. Thesis, University of Utrecht.

58 Visschedijk A. H. J., (1968) The airspace and embryonic respiration. II. The times of pipping and hatching as influenced by an artificially changed permeability of the shell over the air space. Br. Poult. Sci. 9, 185 - 196.

59 Wangensteen O. D., Wilson D. and Rahn H., (1969) Diffusive Permeability of Egg Shell

to Gases. Physiologist 12, 385 - 402.

60 Wangensteen O. D. and Rahn H.,(1971) Respiratory gas exchange by the avian embryo. Respir. Physiol. 11, 31 - 45.

61 Weiß A., (1979) Der Einfluß von Thyroxin und Thioharnstoff auf biochemische Vorgänge der Kükenleber in der perinatalen Phase. Dissertation der tierärztlichen Fakultät München

62 Weißenbeck J., (1981) Der Einfluß der Gaszusammensetzung der Luftkammer auf das Schlupfgeschehen und den Leberstoffwechsel des Kükenembryos. Dissertation der tierärztlichen Fakultät München.

63 Windle W. F. and Barcroft J., (1938) Some factors governing the initiation of respiration in the chick. Am. J. Physiol. 121, 684 - 691.

64 Windle W. F., Scharfenberg L. G. and Steele

A. G., (1938) Influence of carbon dioxide and anoxemia upon respiration of the chick at hatching. Am. J. Physiol. 121, 692 - 699.

Herrn Prof. Dr. Zucker möchte ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes sowie für die angenehmen Arbeitsbedingungen im Institut sehr herzlich danken.

Ganz besonders bedanke ich mich bei Herrn Priv. Doz. Dr. Dr. habil. J. Wittmann für die Überlassung des Themas und für die jederzeit bereitwillig gewährte Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit.

Danken möchte ich auch Herrn Priv. Doz. Dr. Dr. habil. Petry für die vielen Diskussionen und Anregungen zum Thema Motilität sowie den Mitarbeitern des Instituts, Fräulein Riehl, Herrn Fleischmann und Herrn Reiter, die die durch ihre Bereitschaft, ihr Können und ihre Zuverlässigkeit auch zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Lebenslauf

2.Sept. 1946	geboren in München Vater: Walter Kugler Mutter: Margarete Kugler, geb. Wolfseher
1963	Abschluß Mittlere Reife an der Oberrealschule, Fürstenfeldbruck
1963-1965	Elektrotechnikpraktikum bei der Siemens & Halske AG, München
1965-1967	Dienst in der Bayerischen Bereitschaftspolizei
1967-1972	Studium der Elektrotechnik am Oskar-von-Miller-Polytechnikum, München
1972	Abschluß des Studiums mit Ing. grad.
seit 26.2.72	verheiratet mit Ehefrau Christa, geb. Hansbauer
15.6.72	Geburt des Sohnes Michael
1972-1977	Entwicklungsingenieur bei der Siemens AG, München
1977-1983	Studium der Tiermedizin an der LMU München
1980-1984	Doktorand am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München
24.8.1983	Approbation zum Tierarzt
seit 1.10.83	Wissenschaftliche Hilfskraft am obigen Institut